

Dipl.-Ing. Joachim Hörrmann

Prozessführung eines
biotechnologischen Prozesses am
Beispiel der Fermentation des
Bakteriums *Streptococcus*
thermophilus

Prozessführung eines
biotechnologischen Prozesses am
Beispiel der Fermentation des
Bakteriums *Streptococcus*
thermophilus

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Ingenieurwissenschaften

(Dr.–Ing.)

der Technischen Fakultät

der Christian–Albrechts–Universität zu Kiel

Dipl.-Ing. Joachim Hörrmann

Kiel

23.10.2010

1. Gutachter

Prof. Dr.-Ing. Helmut Röck

2. Gutachter

Prof. Dr.-Ing. Christian Schmid

ggf. 3. Gutachter

Datum der mündlichen Prüfung

11.10.2010

*Zwei Dinge sind zu unserer
Arbeit nötig:*

*Unermüdliche Ausdauer und die
Bereitschaft etwas, in das man viel
Zeit und Arbeit gesteckt hat, wieder
wegzuwerfen.*

Albert Einstein

Danksagung

Die vorliegende Arbeit ist in Zusammenarbeit mit dem Lehrstuhl für Automatisierungs- und Regelungstechnik der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel und der Firma Danisco Deutschland GmbH in Niebüll entstanden. Zu Beginn möchte ich mich bei allen Personen von ganzem Herzen bedanken, die mich in meiner Tätigkeit unterstützten, mir mit Rat und Tat zur Seite standen und so zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben.

Mein besonderer Dank geht an Herrn Prof. Dr.-Ing. H. Röck, dem Inhaber des Lehrstuhls für Automatisierung- und Regelungstechnik der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, für die Betreuung und fachliche Begleitung meiner Promotion. Die kritische Betrachtung und Hinterfragung der Lösungsansätze lieferte wertvolle Impulse. Auch möchte ich mich für die angenehme Zusammenarbeit und für die kreativen Freiräume im Rahmen dieser Arbeit bedanken.

Herrn Prof. Dr.-Ing. C. Schmid von der Ruhr-Universität in Bochum danke ich für die Übernahme des Koreferats.

Des Weiteren danke ich der Wirtschaftsförderung und Innovationsstiftung Schleswig-Holstein, die Teile dieser Arbeit finanziell gefördert hat. Der Firma Danisco, insbesondere Herrn Dr. Göling, Herrn Dr. Buchholz, Oliver Gronau und Gunvor Marten sei für die große Unterstützung und gute Zusammenarbeit gedankt.

Die fabelhaften Arbeitsbedingungen, sowie die außerordentliche Hilfsbereitschaft und der hohe Arbeitseinsatz der Kollegen in der Arbeitsgruppe schufen ein Arbeitsumfeld, ohne das die Aufgabe nicht lösbar gewesen wäre. Ein ganz besonderer Dank gebührt hierbei Manuela Lieb. Ohne sie wären die zahlreichen Versuche nicht möglich gewesen. Meiner Bürokollegin Dorothee Barth danke ich für vier Jahre tolle Büroatmosphäre, die vielen Anregungen, ihre Motivationskünste und ihre außerordentliche Geduld.

Danken möchte ich auch meinen anderen Kollegen am Lehrstuhl für die zahlreichen Diskussionen sowie den Mitarbeitern der Bibliothek, die mir bei der Literaturrecherche tatkräftig zur Seite standen.

Ein herzliches Dankeschön auch an meine Studien- und Diplomarbeiter Simon Johannes, Eduard Peter, Thomas von Wantoch und Michael Kräling sowie an Sönke Thomsen, Mirco Scholz, Hanna Timm und Sönke Grunau, die als wissenschaftliche Hilfskräfte meine Arbeit unterstützt haben.

Auch für die Hilfe, das Verständnis und den Zuspruch von Freunden und meiner Familie, insbesondere meiner Eltern und meiner Schwester, möchte ich mich sehr herzlich bedanken.

Kurzfassung

Das Bakterium *Streptococcus thermophilus* ist ein wichtiger Bestandteil in der Milch verarbeitenden Industrie und wird dort beispielsweise als Starterkultur für die Herstellung von Joghurt und Käse verwendet. Die industrielle Herstellung dieses Bakteriums basiert dabei weitestgehend auf herkömmlichen Produktionsverfahren. Diese Herstellungsprozesse sind jedoch mittelfristig nicht mehr in der Lage, wirtschaftlich zu arbeiten und die gestiegenen Anforderungen an Qualität und Ausbeute zu erfüllen.

Aus diesem Grund gewinnt der Einsatz innovativer Prozessführungskonzepte auch in der Lebensmittelindustrie mehr und mehr an Bedeutung. Diese Konzepte müssen gewährleisten, dass in jeder Fermentation eine gleichbleibend hohe Produktqualität und Produktausbeute realisiert werden kann.

Die besten Prozessführungskonzepte führen jedoch nicht zu einem zufriedenstellenden Ergebnis, solange keinerlei Informationen über die internen Prozessvorgänge in Echtzeit vorliegen. Die bisher verfügbaren Hardwaresensoren sind nicht in der Lage, die wichtigsten Prozessgrößen, beispielsweise die Keimzahl, das Substrat Laktose und das Produkt Laktat online zu bestimmen.

Um diesen Unzulänglichkeiten zu begegnen, wird in der vorliegenden Arbeit der Einsatz von Softwaresensoren untersucht. Als effektivstes Werkzeug hat sich dabei die Methode der Künstlichen Neuronalen Netze herausgestellt. Diese sind in der Lage, die qualitative Entwicklung der gesuchten Zustandsgrößen sehr gut wiederzugeben, wobei online nur die Messgrößen für den pH-Wert und die Leitfähigkeit zur Verfügung stehen.

Die mit Hilfe der Softwaresensoren geschätzten Zustandsgrößen dienen als Grundlage für den Einsatz einer Substratregelung. Dabei soll die Konzentration des Substrats über einen vordefinierten Zeitraum hinweg auf einem konstanten Niveau gehalten werden, um eine höhere Qualität des Endprodukts zu erhalten.

Um dieses Ziel zu erreichen wird ein modellprädiktiver Regler eingesetzt, der auf einem mathematischen Prozessmodell basiert. Diese Methode überzeugt beim Einsatz im realen Prozess und führt zu einem sehr guten Regelergebnis.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Motivation	1
1.2	Ziel der Arbeit	1
1.3	Aufbau der Arbeit	2
2	Grundlagen der Milchsäurebakterien	4
2.1	Milchsäurebakterien	4
2.2	Das Bakterium <i>Streptococcus thermophilus</i>	6
3	Material und Methoden	8
3.1	Versuchsbedingungen und Organismus	8
3.1.1	Der Organismus	8
3.1.2	Kultivierungsbedingungen	8
3.2	Sensitivität des biologischen Prozesses	10
3.3	Die Versuchsanlage	13
3.4	Analysemethoden	15
3.4.1	Online-Messtechnik	15
3.4.2	Methoden der Offline-Analyse	16
3.5	Messunsicherheiten und deren Konsequenzen	19
4	Modellbildung	22
4.1	Methoden der Modellierung biotechnologischer Prozesse	22
4.1.1	Das makroskopische Reaktionsschema	24
4.1.2	Entwicklung der Modellkinetik	27

4.2	Methodik der Parameterschätzung	28
4.2.1	Definition geeigneter Gütefunktionale	29
4.2.2	Optimierungsverfahren	31
4.2.3	Strukturierte Parameterschätzung	34
4.3	Modellierung des Batchprozesses	40
4.3.1	Makroskopisches Reaktionsschema zur Kultivierung des Bakteriums <i>Streptococcus thermophilus</i>	40
4.3.2	Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeit r_o	41
4.3.3	Bestimmung des charakteristischen Parametersatzes	42
5	Zustandsschätzung	51
5.1	Zustandsschätzung zur Bestimmung nicht online messbarer Prozessgrößen	51
5.2	Beobachtbarkeit	53
5.2.1	Beobachtbarkeit des Ein-Substrat-Modells	55
5.3	Modellbasierte Beobachterverfahren	59
5.3.1	Das Kalman Filter	59
5.3.2	Das Extended Kalman Filter (EKF)	61
5.3.3	Optimierungsbasierte Schätzverfahren	63
5.4	Einsatz der modellbasierten Beobachterverfahren im Fermentationsprozess	66
5.4.1	Bestimmung interner Prozessgrößen unter Zuhilfenahme des Extended Kalman Filters	66
5.5	Die Methode der Künstlichen Neuronen Netze	71
5.5.1	Bestandteile Künstlicher Neuronaler Netze	72
5.5.2	Netztopologien	75
5.5.3	Das Training	76
5.5.4	Das Radiale Basisfunktionennetz	86
5.6	Einsatz der Neuronen Netze im Fermentationsprozess	90
5.6.1	Einsatz in einer Batchfermentation	90

5.6.2	Erweiterung des Konzepts zur Verbesserung der quantitativen Schätzergebnisse	93
5.6.3	Anwendung in einer Fedbatch-Fermentation	97
5.6.4	Bestimmung prozessspezifischer Kenngrößen	101
6	Prozessführung	107
6.1	Das Konzept der modellprädiktiven Regelung	107
6.2	Erprobung der Regelungsstrategie am Fermentationsprozess	110
6.2.1	Versuchsbeschreibung	110
6.2.2	Erprobung der modellprädiktiven Regelung	111
6.2.3	Simulationsergebnisse	112
6.2.4	Versuchsergebnisse	117
7	Zusammenfassung und Ausblick	120
7.1	Zusammenfassung	120
7.2	Weiterführende Arbeiten	122
	Literaturverzeichnis	124

Abbildungsverzeichnis

2.1	Elektronenmikroskopische Aufnahme des Bakteriums <i>Streptococcus thermophilus</i> [34].	6
2.2	Stark vereinfachte Darstellung des Stoffwechselweges in einer Zelle des Bakteriums <i>Streptococcus thermophilus</i>	7
3.1	Verlauf der mittleren Keimzahl bei zwei unter identischen Versuchsbedingungen durchgeführten Batchversuchen. Man kann deutlich die unterschiedlichen Startwerte c_{X0} erkennen.	11
3.2	Verlauf eines exponentiellen Wachstums bei konstanter Wachstumsgeschwindigkeit $\mu = 1.5$ 1/h.	12
3.3	Versuchsanlage am Lehrstuhl ART der CAU Kiel [12].	13
3.4	Fermenter mit DCU der Firma Sartorius AG (ehemals B.Braun Biotech) mit 2l Volumen [60].	14
3.5	Petrischale nach der Inkubation.	17
3.6	Ergebnisse zweier Analysen derselben Probe auf die Substanzen Laktose (o,*) und Laktat (o,*).	19
3.7	Logarithmische Darstellung der Ergebnisse von Keimzahlauszählungen.	20
3.8	Logarithmische Darstellung des Mittelwerts von Keimzahlauszählungen.	20
4.1	Graphische Darstellung der biotischen und abiotischen Phase in einem Batchreaktor.	23
4.2	Vereinfachende Annahmen für Zellpopulationen [43].	23
4.3	Graphische Darstellung der Entwicklung des kleinsten Fehlerquadrates bei gleicher Gewichtung von Messwerten unterschiedlicher numerischer Wertebereiche.	30
4.4	Schematische Darstellung der strukturierten Parameterschätzung.	39
4.5	Blackboxmodell eines biologischen Prozesses.	40
4.6	Messwerte eines Batchversuchs sowie Simulationsergebnisse.	48

4.7	Vergleich von approximierten und errechneten Verbrauchs- bzw. Produktionsraten \bar{v}_i , $i = S, P$ für das Substrat Laktose und das Produkt Laktat.	49
4.8	Vergleich der simulierten Werte der Biomasse, der Laktose und des Laktats mit den Messwerten eines realen Prozesses.	50
5.1	Schematische Darstellung eines Zustandsschätzers.	52
5.2	Schematische Darstellung der Arbeitsweise eines <i>Moving Horizon Estimators</i> [12].	65
5.3	Graphische Darstellung des Zusammenhangs zwischen Laktat und pH-Wert bzw. Leitfähigkeit.	67
5.4	Gemessene und mit Hilfe eines Extended Kalman Filters geschätzte Werte.	70
5.5	Schematische Darstellung einer Nervenzelle [1].	71
5.6	Abstrakte Modellierung einer Nervenzelle in Anlehnung an Abb. 5.5.	72
5.7	Schematische Darstellung eines Feedforward-Netzes.	75
5.8	Neuronales Netz mit Rückkopplungen.	76
5.9	Schematische Darstellung des Neurons j der Schicht r eines MLP.	82
5.10	Allgemeiner Aufbau eines RBF-Netzes.	87
5.11	Schematische Darstellung der Summe vierer unterschiedlicher Gausskurven nach [40].	88
5.12	Beispiele einer gleichmäßigen Abdeckung des Eingaberaums durch Radiale Basisfunktionen [40].	89
5.13	Strukturelle Darstellung des Netzwerks zur Schätzung der Zustandsgrößen.	91
5.14	Ergebnisse der Schätzung von Keimzahl unter Verwendung künstlicher Neuroner Netze.	92
5.15	Ergebnisse der Schätzung von Laktose und Laktat unter Verwendung künstlicher Neuroner Netze.	92
5.16	Schätzergebnisse der Keimzahl mit drei unterschiedlichen Anfangswerten.	94
5.17	Strukturelle Darstellung der Vorgehensweise zur Schätzung des Anfangswerts der Keimzahl.	95
5.18	Schätzergebnisse für das Substrat Laktose und das Produkt Laktat.	96

5.19	Resultate der Anfangswertschätzung zu Prozessbeginn.	96
5.20	Schätzergebnisse bei einer Schätzung mit angepasstem und konstantem Anfangswert.	97
5.21	Zufütterprofil des Substrats Laktose.	98
5.22	Schätzergebnis der Laktosekonzentration bei einer Fed-Batch-Fermentation unter Verwendung eines Neuronalen Netzes.	99
5.23	Resultate der Keimzahlschätzung mit Hilfe Neuronaler Netze bei einem Fedbatch-Prozess.	100
5.24	Resultate der Schätzung von Laktat mit Hilfe Neuronaler Netze bei einem Fedbatch-Prozess.	101
5.25	Resultate der Schätzung der Konzentration von Laktose bei einem Fedbatch-Prozess mit Hilfe Neuronaler Netze und eines Prozess-Modells.	101
5.26	Gemessene Basenverbrauchskurve und Ergebnis der online geschätzten zweiten Ableitung der Basenverbrauchskurve.	103
5.27	Prinzipielles Vorgehen bei der Prädiktion des Wendepunkts aus dem pH-Wertverlauf.	105
5.28	Normiertes Resultat der Prädiktion des Zeitpunkts zu dem der Wendepunkt der Basenverbrauchskurve eintritt.	106
6.1	Strukturelle Darstellung des Konzepts der modellprädiktiven Regelung.	108
6.2	Schematische Darstellung der Arbeitsweise einer modellprädiktiven Regelung.	109
6.3	Strukturelles Vorgehen bei nicht vernachlässigbarer Totzeit.	109
6.4	Wunschtrajektorie des Substratverlaufs.	111
6.5	Simulation mit Steuerhorizont $N_u = 6$, ohne Berücksichtigung der Stellgrößenänderungen, $\mathbf{T} = 0$	114
6.6	Simulation mit Steuerhorizont $N_u = 6$, ohne Berücksichtigung der Stellgrößenänderungen, $\mathbf{T} = 1$	115
6.7	Simulation mit den Designparametern $N_2 = 24$, $N_u = 6$, $\mathbf{T} = 1$ sowie $\mu_{max,mpc} = 0.9\mu_{max}$	116
6.8	Resultate der Laktosekonzentration und des zugehörigen Zufütterprofils bei einem Fedbatch-Versuch mit MPC.	118

6.9	Resultate der Laktatkonzentration und der Keimzahl bei einem Fedbatchversuch mit MPC.	119
6.10	Resultate des pH-Werts und der Leitfähigkeit bei einem Fedbatchversuch mit MPC.	119

Symbolverzeichnis

Generelle Notation

A, a, \dots	Skalare
\underline{A}, \dots	Vektoren
\mathbf{A}, \dots	Matrizen

Lateinische Buchstaben

A	Dynamikmatrix eines linearen Systems
B	Eingriffsmatrix eines linearen Systems
C	Messmatrix eines linearen Systems
$c_{\{\dots\}}$	spezifische Konzentrationen
D	Durchgriffsmatrix
D	Verdünnungsrate
$E\{\}$	Erwartungswert
F	Zuflussrate
$\underline{f}(\dots)$	Zustandsvektorfunktion
$\underline{h}(\dots)$	Ausgangsvektorfunktion
I	Einheitsmatrix
J	Gütefunktional
\mathbf{K}_k	Kalmanverstärkungsmatrix
K_P	Inhibierungskonstante
K_S	Limitierungskonstante
\underline{p}	Vektor des charakteristischen Parametersatzes
\mathbf{P}	Kovarianzmatrix
\mathbf{Q}_B	Beobachtbarkeitsmatrix
\mathbf{Q}_k	Kovarianzmatrix des Systemrauschens
\mathbf{R}_k	Kovarianzmatrix des Messrauschens
$\underline{r}(x, t)$	reaktionskinetische Funktion
S	Gewichtungsmatrix
T	Gewichtungsmatrix

t	Zeit
\underline{u}	Stellgrößenvektor
\underline{v}	Messrauschen (vektorieller weißer Rauschprozess)
\underline{w}	Prozessrauschen (vektorieller weißer Rauschprozess)
\mathbf{W}	Gewichtungsmatrix
\underline{x}	Zustandsvektor
\underline{y}	Ausgangsvektor
$\Upsilon_{\{\dots\}}$	spezifischer Ausbeutekoeffizient

Griechische Buchstaben

μ	Wachstumsrate
μ_{max}	maximale Wachstumsrate
ν	Aufnahme-/Verbrauchsrate
ψ_{lim}	Limitierungsterm
ψ_{inhib}	Inhibierungsterm
$\Upsilon_{\{\dots\}}$	spezifischer intrazellulärer Ausbeutekoeffizient

Indizes

0	Startwert
i, j, k, l, m, n	Zähler
lf	Leitfähigkeit
kor	korrelierte Werte
M	intrazelluläre Metaboliten
pH	pH-Wert
P	Produkt
p	produziert
S	Substrat
v	verbraucht
X	Keimzahl

Hochgestellte Symbole

$\hat{}$	geschätzte Werte
$\dot{}$	Zeitableitung
$(-)$	a priori Wert
$(+)$	a posteriori Wert
$*$	normiert
o	optimal

Notation für die Neuronalen Netze

a_j	Aktivierungszustand des Neurons j
b	Schwellenwert des Neurons j
c_j	Zentrum des Neurons j eines RBF-Netzes
d_j	gewünschter Ausgabewert (Desired Output) des Neurons j
e_j	Ausgabefehler des Neurons j
E	Fehlerterm
f_{act}	Aktivierungsfunktion
f_{out}	Ausgabefunktion
f_{prop}	Propagierungsfunktion
\underline{p}_j	Vektor der Eingangssignale des Neurons j
s_j	Netzeingabe des Neurons j
\mathbf{S}_r	Aktivierungsmatrix der Schicht r
\mathbf{T}	Matrix der Ausgabewerte des Neuronalen Netzes
\hat{y}_j	Ausgabewert des Neurons j
$w_{i,j}$	Gewicht zwischen den Neuronen i und j
\mathbf{W}	Matrix der Gewichte $w_{i,j}$
Λ	Normierungsfaktor
δ	Differenz von Ausgabewert und gewünschtem Wert
η	Lernrate
σ	Breite des Neurons j eines RBF-Netzes

Kapitel 1

Einleitung

1.1 Motivation

Milch gilt als eines der wichtigsten und vielseitigsten Lebensmittel der Welt. Der Milchverbrauch im Jahr 2004 lag bei etwa 616 Millionen Tonnen, wobei für die nächsten Jahre ein Zuwachs von 10 Tonnen pro Jahr prognostiziert wird. Milcherzeugnisse sollen rein, natürlich und frisch sein und gesundheitsfördernd wirken. In Ländern, in denen der Grundbedarf an Milchprodukten gedeckt ist, stellen Verbraucher zudem hohe Ansprüche an Vielfalt, Qualität und Konsistenz von Milchprodukten. Rechnet man die strengen Auflagen von Lebensmittelkontrolle und Handel hinzu, wird deutlich wie hoch die grundlegenden Anforderungen an die Gewinnung und Verarbeitung von Milch sind: Hygiene, Haltbarkeit, produktschonende Verfahren, optimale Kühlung der Roh-, Zwischen- und Endprodukte. Der globale Wettbewerb erfordert dabei von Erzeugern und Verarbeitern wirtschaftliche, sichere und flexible Prozessführung auf dem jeweils neuesten Stand der Technik [2].

Aus diesem Grund hat der Lehrstuhl für Automatisierungs- und Regelungstechnik der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel mit Unterstützung der Innovationsstiftung Schleswig-Holstein ein Kooperationsprojekt mit der Firma Danisco in Niebüll ins Leben gerufen, mit dem Ziel, die Herstellungsprozesse von Milchsäurebakterien wissenschaftlich zu untersuchen und mit Hilfe moderner systemtheoretischer Methoden zu optimieren.

1.2 Ziel der Arbeit

Die Produktion von Starterkulturen erfolgt aktuell zu einem Großteil noch anhand herkömmlicher Herstellungsverfahren. Dabei spielen vor allen Dingen die Erfahrungswerte des Bedienpersonals eine große Rolle. Oftmals ist es jedoch nicht möglich, Prozessverläufe a priori vorherzusagen. Daraus ergibt sich dann ein qualitativ schlechteres Produkt. Mit Hilfe geeigneter Automatisierungsstrategien soll der Fermentationsverlauf einem vorgegebenen Verlauf folgen, damit der Downstreamprozess einheitlich gestaltet und rechtzeitig vorbereitet werden kann. Dadurch erhofft man sich eine höhere Ausbeute und eine bessere Qualität des Produkts.

1.3 Aufbau der Arbeit

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich eingehend mit der Prozessführung der Fermentation des Milchsäurebakteriums *Streptococcus thermophilus*. Das zweiten Kapitel behandelt einige Grundlagen der Milchsäuregärung und des Bakteriums. Dabei werden die unterschiedlichen Möglichkeiten der Milchsäuregärung erläutert und der Stoffwechselprozess des *Streptococcus thermophilus* beschrieben.

Eine Beschreibung der für die Fermentation und die anschließende Analyse notwendigen Materialien und Methoden ist Gegenstand des dritten Kapitels. Dabei wird detailliert auf die Versuchsbedingungen eingegangen, die Versuchsanlage vorgestellt und die Analysemethoden beschrieben. Eine Diskussion über die Sensitivität und die Genauigkeit der erzielten Messwerte schließt dieses Kapitel ab.

In Kapitel vier wird ein mathematisches Wachstumsmodell entwickelt, das im weiteren Verlauf der Arbeit als Grundlage für die Zustandsschätzung und Regelung des Fermentationsprozesses dient. Zu Beginn des Kapitels steht die Herleitung eines makroskopischen Reaktionsschemas und die Entwicklung der zugehörigen Modellkinetik im Vordergrund. Anschließend erfolgt die detaillierte Beschreibung einer Methode zur strukturierten Schätzung der entsprechenden kinetischen Parameter, wobei auch auf unterschiedliche Optimierungsverfahren eingegangen wird. Durch die Anwendung der beschriebenen Methoden auf die Fermentation des Bakteriums *Streptococcus thermophilus* ergibt sich abschließend ein mathematisches Wachstumsmodell aus gekoppelten Differentialgleichungen, mit welchem der Herstellungsprozess nachgebildet werden kann.

Kapitel fünf beschäftigt sich mit der Schätzung nicht direkt messbarer Prozessgrößen. Nachdem zu Beginn die Methode der Zustandsschätzung vorgestellt wird, folgt im Anschluss die Beobachtbarkeitsanalyse des Prozesses. Das im vorigen Kapitel entwickelte Wachstumsmodell dient als Grundlage für den Entwurf eines Extended Kalman Filters. Dieser Beobachter kommt anschließend im Fermentationsprozess zur Schätzung der nicht online messbaren Zustandsgrößen Keimzahl, Laktose und Laktat zum Einsatz. Als weitere Möglichkeit wird die Zustandsschätzung unter Zuhilfenahme Neuronaler Netze betrachtet. Nach dem das Prinzip in Grundzügen vorgestellt worden ist, folgt wiederum die Erprobung am realen Fermentationsprozess. Es zeigt sich, dass das Schätzergebnis sensitiv auf Änderungen in den Anfangswerten der Zustandsgrößen reagiert. Zur Verbesserung der quantitativen Resultate, wird die Methode der Neuronalen Netze mit einem optimierungsbasierten Zustandsschätzer gekoppelt, um zusätzlich eine Schätzung der Anfangswerte der gesuchten Zustände zu erhalten. Des weiteren wird der Zustandsschätzer erweitert, damit auch im Falle eines Fedbatch-Versuchs brauchbare Ergebnisse geliefert werden. Abschließend wird eine Möglichkeit aufgezeigt, wie mit Hilfe der Mustererkennung vor Prozessbeginn definierte spezifische Prozesszeitpunkte prädiziert werden können.

Kapitel sechs beschäftigt sich mit der Regelung der Substratkonzentration unter

Verwendung eines modellprädiktiven Reglers. Dabei wird der Wert der optimalen Stellgröße durch die Minimierung eines Gütekriteriums bestimmt. Zunächst wird die Methoden simulativ erprobt und anschließend am realen Prozess verifiziert. Die experimentelle Untersuchung am realen Prozess bestätigt dabei das bereits in der Simulation gezeigte zufriedenstellende Regelverhalten.

Kapitel sieben schließt die Arbeit mit einer Zusammenfassung und dem Ausblick auf weitere durchzuführende Arbeiten ab.

Diverse Teile dieser Arbeit wurden in den letzten Jahren bereits einer breiten Öffentlichkeit vorgestellt [5, 6, 7, 28, 29, 30, 31, 32, 33].

Kapitel 2

Grundlagen der Milchsäurebakterien

Die Herstellung von Milchprodukten, unter anderem Käse und Joghurt, geschieht mit Hilfe der Milchsäuregärung. Durch diesen Vorgang werden die Lebensmittel gesäuert und vorhandene Verderbniserreger in ihrer Aktivität gehemmt oder abgetötet. Dieser Prozess erfolgt durch Milchsäurebakterien, die die in den Lebensmitteln vorhandene Glukose in Milchsäure umwandeln. In modernen milchverarbeitenden Betrieben werden diese Bakterien zumeist als Starterkulturen von externen Zulieferfirmen bezogen. Im Folgenden sollen einige biologische Grundlagen erörtert werden, die das generelle Verständnis der vorliegenden Arbeit erleichtern. Eine detailliertere Beschreibung der Milchsäurebakterien und der verschiedenen Arten der Milchsäuregärung findet der interessierte Leser in der weiterführenden Literatur [16, 59].

2.1 Milchsäurebakterien

Milchsäurebakterien sind grampositive, anaerobe aber meistens aerotolerante Bakterien. In der wissenschaftlichen Literatur werden sie der Gruppe der Lactobacteriaceae zugerechnet. Sie bilden keine Sporen, sind unbeweglich und treten sowohl als Lang- und Kurzstäbchen, als auch als Kokken vom Streptokokkentyp auf. Diese Spezies zeichnet sich dadurch aus, dass sie zur Energiegewinnung auf Kohlenhydrate angewiesen ist, die im Rahmen des Stoffwechsels zu Milchsäure (Laktat) abgebaut werden. Da es sich bei diesen Bakterien um anaerobe Bakterien handelt, wird für den Stoffwechselvorgang kein Sauerstoff benötigt. Allerdings sind vor allem die Streptokokken dennoch in der Lage auch in Gegenwart von Luftsauerstoff zu wachsen.

Milchsäurebakterien benötigen für ihr Wachstum Vitamine, Aminosäuren, Purine und Pyrimidine, sogenannte Supplinen. Auf einem reinen Mineralmedium ohne Supplinen sind sie nicht in der Lage sich zu vermehren. Das liegt daran, dass die Lactobakterien die Fähigkeit zur Synthese vieler Metaboliten verloren haben. Ein möglicher Grund hierfür könnte die Spezialisierung auf das Wachstum in Milch und anderen nährstoff- und supplinenreichen Standorten sein. Aufgrund dieser besonderen Ansprüche an Nährstoffe lassen sich die natürlichen Standorte, an denen Lactobakterien zu finden sind, auf Milch, inklusive deren Erzeugungs- und Verarbeitungsstätten,

intakte und sich zersetzende Pflanzen sowie Darm und Schleimhäute von Lebewesen reduzieren.

Auf Grund der relativ hohen Ansprüche der Milchsäurebakterien an ihre Wachstums-
umgebung, müssen zur Kultivierung von Lactobakterien komplexe Medien verwen-
det werden, die beispielsweise Magermilchpulver oder Hefeextrakt enthalten.

Eine wichtige Rolle spielen diese Bakterien bei der Milchsäuregärung wegen ihrer
Eigenschaft, das in der Milch vorhandene Disaccharid Laktose zu spalten und dann
in Laktat umzuwandeln. Die Aufspaltung des Milchzuckers erfolgt mit Hilfe des En-
zyms β -Galactosidase zu Glukose und Galaktose.

Homofermentative vs. heterofermentative Milchsäuregärung

Die Umwandlung der aus dem Milchzucker gespaltenen Glukose in das Stoffwech-
selprodukt Laktat ist abhängig vom Bakterienstamm, welcher die Glukose abbaut.
Je nach Spezies erfolgt diese Transformation über einen von zwei möglichen Stoff-
wechselwegen. Abhängig vom Stoffwechselpfad, über den das Bakterium die Glukose
abbaut, wird es entweder der Gruppe der homofermentativen oder der Gruppe der
heterofermentativen Milchsäurebakterien zugeordnet.

Homofermentative Milchsäuregärung

Bei der homofermentativen Milchsäuregärung wird die Glukose zuerst zu Pyruvat
abgebaut. Dieser Vorgang ist als Glycolyse, Fructosebisphosphat-Weg oder Embden-
Meyerhof-Weg bekannt [59]. In einem weiteren Schritt wird das Pyruvat durch die
Laktat-Dehydrogenase zu Laktat umgewandelt. Dabei wird nur ein sehr kleiner Teil
des Pyruvats decarboxyliert und zu Nebenprodukten wie Acetat, Ethanol und Koh-
lendioxid sowie Acetoin umgesetzt, während zu über 90% reines Laktat gebildet wird.

Heterofermentative Milchsäuregärung

Im Gegensatz zu den homofermentativen Milchsäurebakterien fehlen den heterofer-
mentativen Lactobakterien die für den Fructosebisphosphat-Weg notwendigen Enzy-
me Aldolase und Triosephosphat-Isomerase. Daher wird bei dieser Art der Milchsäu-
regärung die Glukose ausschließlich über den Pentosephosphat-Weg abgebaut.

2.2 Das Bakterium *Streptococcus thermophilus*

Das Bakterium *Streptococcus thermophilus* ist ein schnell säuerndes, homofermentatives Milchsäurebakterium, das kaum CO_2 produziert. Es tritt in vielen verschiedenen Stämmen auf, die sich in der Art der Verstoffwechselung von Milchzucker in Milchsäure unterscheiden. Die Form des Mikroorganismus lässt sich gut in Abb. 2.1 erkennen, in der eine elektronenmikroskopische Aufnahme des Bakteriums dargestellt ist.

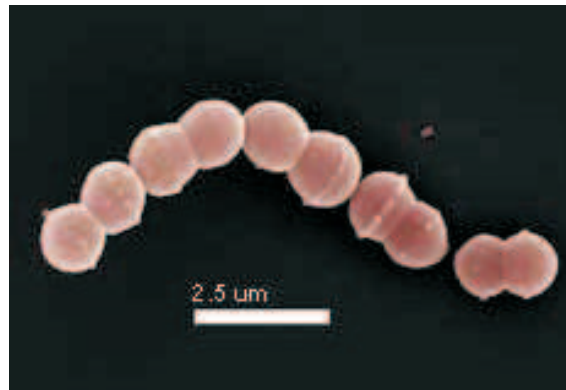


Abb. 2.1: Elektronenmikroskopische Aufnahme des Bakteriums *Streptococcus thermophilus* [34].

In den letzten Dekaden wurde das Bakterium *Streptococcus thermophilus* von verschiedenen Forschungsgruppen detailliert untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass der Organismus in der Lage ist, sowohl Laktose als auch Galaktose zu verstoffwechseln. Allerdings ist das Wachstum mit dem Substrat Galaktose deutlich geringer, als es bei einer Fermentation mit Hilfe des Substrats Laktose der Fall ist [64]. Abhängig von der Art des Stammes ist das Bakterium *Streptococcus thermophilus* in der Lage, neben den bereits genannten Substraten Laktose und Galaktose auch Fruktose, Glukose und Sukrose aufzunehmen und zu spalten [26].

Der Metabolismus des Mikroorganismus wird in [26, 49] beschrieben. Da es sich bei dem betrachteten Bakterium um einen homofermentativen Organismus handelt, wird das aufgenommene Disaccharid Laktose durch das Enzym β -Galaktosidase in die beiden Monosaccharide Galaktose und Glukose aufgespalten. Die Glukose wird über die Glycolyse zu Pyruvat abgebaut, welches durch die Pyruvatdehydrogenase zu Laktat verstoffwechselt wird. Das Monosaccharid Galaktose wird, solange Laktose im Medium vorhanden ist, aus der Zelle ausgeschleust. In Abwesenheit von Laktose wird die Galaktose über den Leloir-Pathway zu UDP¹-Glukose metabolisiert und dann in die Glycolyse eingebracht. Eine schematische Darstellung des Stoffwechselablaufes in der Zelle ist in Abb. 2.2 dargestellt.

¹UDP - Uridine diphosphat

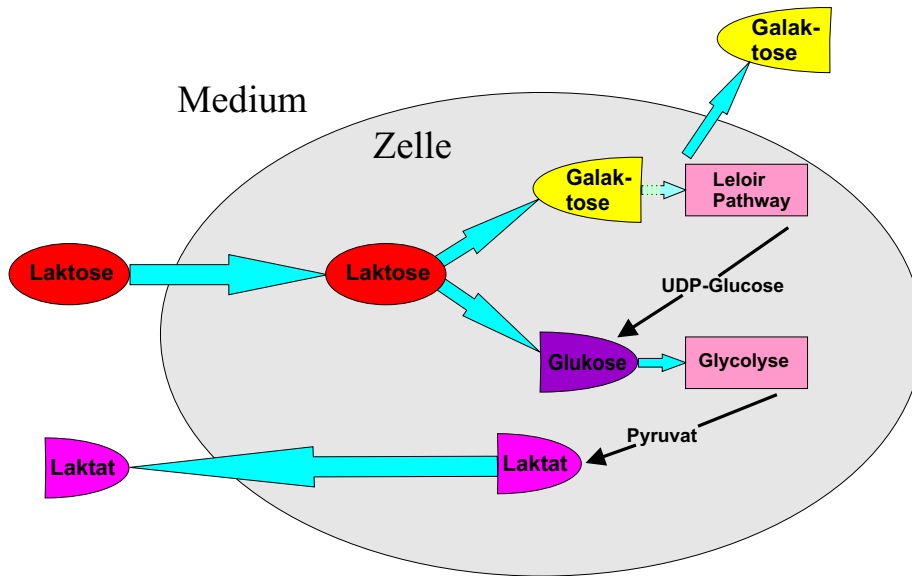


Abb. 2.2: Stark vereinfachte Darstellung des Stoffwechselweges in einer Zelle des Bakteriums *Streptococcus thermophilus*.

Untersuchungen zur Kultivierung des Bakteriums in Medien mit verschiedenem Säuregrad führten zu der Erkenntnis, dass die höchste Wachstumsrate der Bakterien bei einem pH-Wert von 6.3 erreicht wird. Ab einem pH-Wert von 5 nimmt die Zelle Schaden, bei einem pH-Wert von 4 ist die Wachstumsrate bereits beinahe 0 [22].

Industrielle Anwendung des *Streptococcus thermophilus*

Bei dem Bakterium *Streptococcus thermophilus* handelt es sich um ein wichtiges Bakterium in der Milchverarbeitenden Industrie. Seine Hauptaufgabe besteht in der Säuerung von Milch. Zusammen mit dem Bakterium *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* wird er für die Herstellung von Joghurt verwendet. Dabei ergänzen sich beide Bakterien gegenseitig. Der *Streptococcus thermophilus* bildet die für das Wachstum des *Lactobacillus bulgaricus* notwendige Ameisensäure, während die für das Wachstum des *Streptococcus thermophilus* benötigten Aminosäuren und Peptide vom *Lactobacillus bulgaricus* gebildet werden. Die Symbiose dieser beiden Mikroorganismen führt zu einem schnelleren Wachstum und einer schnelleren Säuerung, als es bei einer isolierten Verwendung beider Stämme der Fall wäre [16].

Kapitel 3

Material und Methoden

Gegenstand dieses Kapitels sind das Material und die Methoden, welche für die dieser Arbeit zu Grunde liegenden Experimente benutzt worden sind. Dabei werden der verwendete Organismus ebenso wie die für das Wachstum des Bakteriums verwendeten Standardkultivierungsbedingungen beschrieben. Des Weiteren werden die Standard-Offline-Analysemethoden zur Bestimmung der Medienkomponenten, die Online-Messtechnik, die Versuchsanlage sowie das Prozessleitsystem vorgestellt.

3.1 Versuchsbedingungen und Organismus

3.1.1 Der Organismus

Bei dem in den Versuchen verwendeten Organismus handelt es sich um das Bakterium *Streptococcus thermophilus* 1974. Diese Spezies wird von der Firma Danisco gefriergetrocknet zur Verfügung gestellt und am Lehrstuhl bis zur Weiterverwendung gekühlt gelagert.

3.1.2 Kultivierungsbedingungen

Sämtliche Versuche werden mit einem auch in der industriellen Produktion verwendeten Standardkulturmedium gemäß [50] durchgeführt. Die Herstellung der Vorkultur sowie der Versuchsablauf entsprechen ebenfalls den Anweisungen aus [50].

Vorkultur

Zur Herstellung der Vorkultur wird als Impfmedium in sämtlichen Vorgängen 9%-ig rekonstruierte Magermilch verwendet. Die rekonstruierte Magermilch muss vor Zugabe der entsprechenden Impfmenge 15 Minuten bei 110°C autoklaviert werden, um Sterilität zu gewährleisten. Der gefriergetrocknete Stamm wird in einer ersten Aufnahme im Impfmedium für 15 Stunden bei 37°C in einem Erlenmayer Schüttelkolben

gelöst. Im Anschluss werden zwei sogenannte Passagen durchgeführt. Dabei wird jeweils das Produkt der vorigen Aufnahme beziehungsweise Passage mit einem 2%-igen Anteil dem Impfmedium zugegeben. Nach Zugabe der Impfmenge wird das Medium 6 Stunden bei einer Temperatur von 42°C und einem pH-Wert von 4.65 kultiviert. Sollte der Impfer noch nicht ausreichend angewachsen sein, wird noch eine dritte Passage unter identischen Bedingungen durchgeführt.

Das Kultivierungsmedium

Die Standardversuche werden jeweils mit derselben Medienzusammensetzung in einem 2l-Fermenter durchgeführt. Das Standardkultivierungsmedium besteht aus 1924g vollentsalztem (VE) Wasser, 10g Magermilchpulver, 40g Molkepulver, 74g Laktose, 26g Hefeextrakt und 2g Calciumcarbonat. Diese Komponenten sind in Tab. 3.1 zusammengefasst.

Menge [g/l]	Komponente
962	VE Wasser
5	Magermilchpulver
20	Molkepulver
37	Laktose
13	Hefeextrakt
1	Calciumcarbonat

Tab. 3.1: Bestandteile eines Liters des Standardkultivierungsmediums.

Zur Herstellung des Mediums werden sämtliche Komponenten in VE-Wasser aufgelöst. Anschließend wird der pH-Wert mit Hilfe von Natriumhydroxid (Natronlauge) und Phosphorsäure auf einen Wert von 7.5 eingestellt und im Autoklaven 10 Minuten bei einer Sterilisationstemperatur von 121°C sterilisiert. Zu Beginn der Fermentation, vor Inokulation des Impfers, wird der pH-Wert des Mediums unter erneuter Verwendung von Natronlauge beziehungsweise Phosphorsäure auf einen Wert von 6.6 eingestellt.

Ablauf des Standardversuchs

Die Inokulationsmenge der Vorkultur beträgt 1% des Reaktorvolumens und sollte einer Ausgangskeimzahl von 10^7 Zellen entsprechen. Je nachdem, wie die Bakterien

in der Vorkultur angewachsen sind, variiert dieser Wert jedoch, wie in Kapitel 3.2 anhand experimenteller Resultate gezeigt wird. Die Rührerdrehzahl wird im Verlauf der Fermentation bei 400min^{-1} ebenso konstant gehalten wie die Temperatur, für deren Wert $40 \pm 0.5^\circ\text{C}$ gilt. Im Verlauf der Fermentation sinkt der auf einen Wert von 6.6 voreingestellte pH-Wert ab, da durch den Stoffwechsel der Bakterien die Säure Laktat gebildet wird. Erreicht der pH-Wert die Grenze von 6.0 setzt die pH-Regelung ein, um mit Hilfe von Natronlauge den pH-Wert des Kultivierungsmediums im gewünschten Bereich von 6.0 ± 0.2 zu halten.

Die Aktivität

Das wichtigste Qualitätsmerkmal des fertigen Produkts ist dessen Aktivität. Im Allgemeinen versteht man darunter wie schnell die Milch nach dem Animpfen mit der Bakterienkultur gesäuert wird. Die Aktivität beschränkt sich jedoch nicht nur auf die Fähigkeit des Starters Laktat zu produzieren, sondern schließt auch zusätzlich solche enzymatischen Aktivitäten mit ein, die zur Aromaproduktion oder Eindickung der Milch beitragen. Gewöhnlich wird die Aktivität durch die Fähigkeit eines Starters, Laktat zu produzieren, definiert. Je höher die Aktivität einer Starterkultur ist, desto schneller sinkt der pH-Wert der beimpften Milch. Dadurch ergibt sich ein messbares Kriterium [4].

3.2 Sensitivität des biologischen Prozesses

Im Gegensatz zu rein physikalischen Prozessen ist die Reproduzierbarkeit von aufeinanderfolgenden Vorgängen in der Biologie nur bedingt gegeben. Es ist zwar möglich, mit denselben Prozessbedingungen einen gewünschten Wert des Endprodukts zu erhalten, allerdings gestaltet sich der Prozessverlauf während der Fermentation in jedem Versuch unterschiedlich.

Der Zeitpunkt, bei dem die erwartete maximale Zellkonzentration im Reaktor eintritt und der Zellorganismus von Wachstums- auf Erhaltungsstoffwechsel umstellt, variiert in jedem Versuch. Es ist zu beobachten, dass die maximale Zellkonzentration in einigen Versuchen früher erreicht wird, als dies im Durchschnitt der Fall ist. Andererseits kann die Prozesszeit eines Versuchs die durchschnittliche Fermentationsdauer jedoch auch deutlich überschreiten. Es ist ebenfalls zu beobachten, dass sich die Konzentrationsverläufe des Produktes während der Fermentation unterscheiden. In Abb. 3.1 sind die Verläufe der Keimzahlen von zwei im eigenen Labor durchgeführten Batchversuchen der Fermentation des Bakteriums *Streptococcus thermophilus* aufgetragen, die unter identischen Versuchsbedingungen durchgeführt wurden.

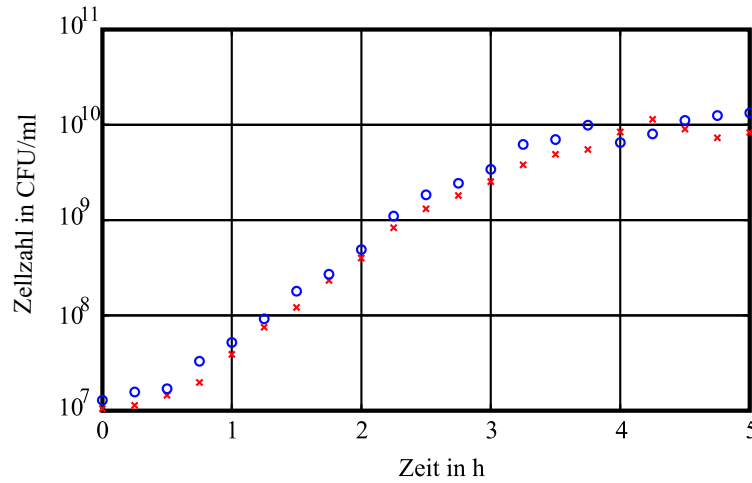


Abb. 3.1: Verlauf der mittleren Keimzahl bei zwei unter identischen Versuchsbedingungen durchgeführten Batchversuchen. Man kann deutlich die unterschiedlichen Startwerte c_{X0} erkennen.

Die zugehörige Messmethode, mit der diese Werte ermittelt wurden, wird in Abschnitt 3.4.2 vorgestellt. Die Gründe für ein unterschiedliches Prozessverhalten sind vielfältig. Die Wachstumsrate der Bakterien während der Fermentation ist von der Aktivität der Mikroorganismen abhängig. Die Tatsache, dass Bakterien in einigen Versuchen eine höhere Vitalität besitzen als in entsprechenden Referenzversuchen ist vermutlich biologischer Natur und prozesstechnisch nicht zu erklären [50]. Ein weiterer, wichtiger Grund für unterschiedliche Prozesszeiten sind Unsicherheiten in den Anfangsbedingungen. Es ist nicht möglich, die Anzahl der Bakterien in der Vorkultur zum Zeitpunkt der Inokulation exakt zu bestimmen. Außerdem sind Schwankungen in der Menge der Vorkultur, mit der der Fermenter angeimpft wird, nicht auszuschließen. Daher startet jede Fermentation mit einer unterschiedlichen Anzahl an Bakterien, wie ebenfalls in Abb. 3.1 zu erkennen ist. Bei den hier gezeigten Fermentationen bewegten sich die Anfangswerte c_{X0} zwischen $9.45 \cdot 10^6 CFU/ml$ und $1.29 \cdot 10^7 CFU/ml$ (*Colony Forming Units*, Einheit der Zellzahl). Die Streuung der Anfangswerte führt dazu, dass die Dauer des Prozesses von Versuch zu Versuch variieren kann. Legt man ein exponentielles Wachstum der Bakterien in der Form

$$c_X(t) = c_{X0} \cdot e^{\mu \cdot t} \quad (3.1)$$

mit konstanter Wachstumsrate μ zu Grunde, so weist der erreichte Wert zu einem festen Zeitpunkt $t = t_{end}$ bei unterschiedlicher Anfangsbedingung X_0 deutliche Unterschiede auf. Dieser Effekt ist in Abb. 3.2 graphisch dargestellt.

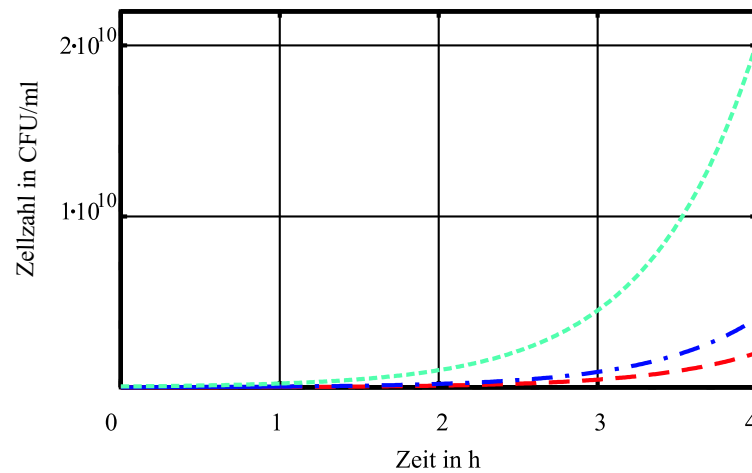


Abb. 3.2: Verlauf eines exponentiellen Wachstums bei konstanter Wachstumsgeschwindigkeit $\mu = 1.5 \text{ 1/h}$ und unterschiedlicher Anfangsbedingung c_{X0} : $c_{X0} = 5 \cdot 10^6 \text{ CFU/ml}$; $c_{X0} = 1 \cdot 10^7 \text{ CFU/ml}$; $c_{X0} = 5 \cdot 10^7 \text{ CFU/ml}$.

In einem realen biologischen Prozess kann die Wachstumsrate nicht zwangsläufig als konstant angenommen werden, da sie von verschiedenen Faktoren, beispielsweise der Substratkonzentration im Medium abhängen kann. Dennoch führen Streuungen in den Anfangswerten zu einer unterschiedlichen Wachstumsdynamik und daraus resultierenden unterschiedlichen Prozessverläufen.

3.3 Die Versuchsanlage

Innerhalb der letzten Dekade wurde am Lehrstuhl für Automatisierungs- und Regelungstechnik eine umfangreiche Versuchsanlage, bestehend aus Laborfermentern, Prozessleitsystem sowie Mess- und Steuereinrichtungen, aufgebaut [12, 43, 60, 62], die in Abbildung 3.3 zu sehen ist. Mit Hilfe dieses Aufbaus ist es möglich, biotechnologische Fermentationen durchzuführen und zu analysieren.

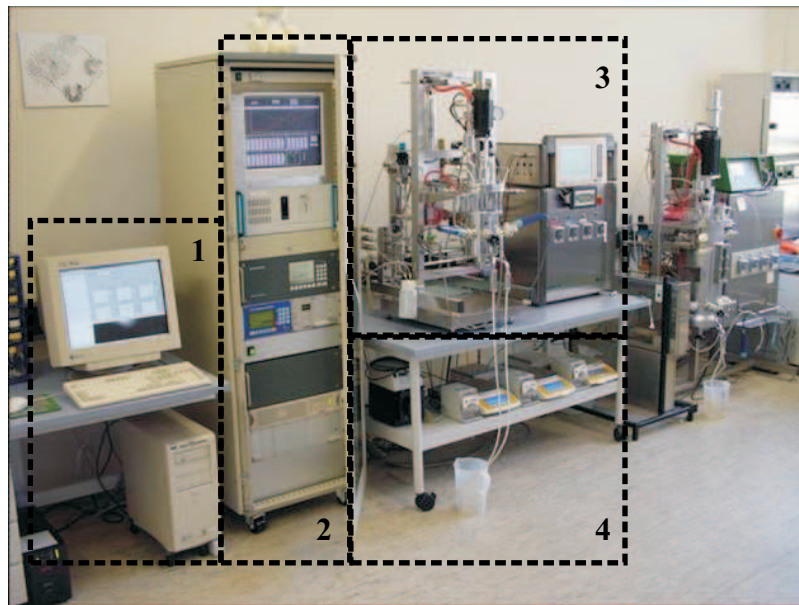


Abb. 3.3: Versuchsanlage am Lehrstuhl ART der CAU Kiel [12].

- 1 Bedienterminal
- 2 Prozessleitsystem
- 3 Laborfermenter mit DCU
- 4 Pumpen-Waagen-Systeme.

Sämtliche Experimente wurden in einem, in Abbildung 3.4 dargestellten, 2l Bioreaktor des Typs Biostat-CT der Firma Sartorius BBI System durchgeführt. Die Abfrage beziehungsweise Bedienung der im Fermenter integrierten Sensoren und Aktoren erfolgt über eine DCU (Digital Control Unit). Dabei können unter anderem Fermentationstemperatur und Rührerdrehzahl eingestellt, sowie der pH-Wert geregelt werden. Des weiteren verfügt der Reaktor über zusätzliche Stutzen, an denen Messsonden und Einstechgarnituren für die Zufütterung angebracht werden können.

Zur Durchführung von Fedbatch-Experimenten sind drei Pumpen-Waagen-Systeme vorhanden. Dabei handelt es sich um Waagen der Firma Sartorius sowie um Pumpen der Firma Ismatec. Diese können über einen PC mit Hilfe einer RS232-Schnittstelle angesteuert werden.



Abb. 3.4: Fermenter mit DCU der Firma Sartorius AG (ehemals B.Braun Biotech) mit 2l Volumen [60].

Das Prozessleitsystem

Zur Prozessüberwachung und -steuerung sowie zur Protokollierung und Archivierung der mit Hilfe verschiedener Sensoren ermittelten Online-Messwerte steht ein modernes Prozessleitsystem zur Verfügung. Das zentrale Element dieses Prozessleitsystems ist die Anwendung WinCC der Firma Siemens, die sämtliche Standardaufgaben der Prozessüberwachung übernimmt. Es steht in Verbindung mit den Messsensoren, archiviert die gelieferten Daten und stellt diese internen und externen Anwendungen zur Verfügung. Mit Hilfe einer HMI-Schnittstelle können die Messwerte dem Benutzer visuell dargestellt werden.

Eine weitere wichtige Anwendung für eine leistungsfähige Prozessführung ist die mathematische Softwareumgebung MATLAB (MATrix LABoratory). Dort sind sämtliche Methoden implementiert, die für eine funktionsfähige Prozessführung benötigt werden. Dabei handelt es sich zum einen um unterschiedliche Möglichkeiten der Zustandsschätzung mit Hilfe von Beobachterverfahren. Zum anderen sind verschiedene Prozessführungskonzepte zur Bestimmung der Trajektorie für eine geregelte Zufütterung des Substrats hinterlegt. Die von WinCC aufgenommenen und archivierten Messwerte werden über eine OPC (Object Linking and Embedding for Process Control) Schnittstelle an Matlab übergeben und stehen den dort implementierten Anwendungen direkt zur Verfügung. Über eine RS232-Schnittstelle werden von Matlab die Pumpen angesteuert, um auch Fedbatch Experimente realisieren zu können. Für eine detailliertere Beschreibung des Prozessleitsystems wird auf [12] verwiesen.

3.4 Analysemethoden

Um die durchgeführten Experimente abschließend analysieren und bewerten zu können, wird der komplette Prozessverlauf anhand von Messdaten dokumentiert. Diverse Größen können online über am Fermenter angebrachte Sonden bestimmt und mit Hilfe des im vorigen Abschnitt vorgestellten Prozessleitsystems archiviert werden. Es ist jedoch nicht möglich, sämtliche für die Beschreibung des Prozessverlaufes relevanten Größen direkt zu messen. Aus diesem Grund müssen zusätzliche Offline-Analysen durchgeführt werden. Dazu werden in bestimmten Zeitabständen über ein steriles Entnahmemodul Proben aus dem Fermenter entnommen und anschließend manuell ausgewertet. Nach jeder Probenahme wird dieses Modul bedampft, um weiterhin Sterilität gewährleisten zu können.

3.4.1 Online-Messtechnik

Um die für die Fermentation erforderlichen Umgebungsbedingungen (Temperatur, Rührerdrehzahl, etc.) garantieren zu können, werden diese Größen online erfasst und über unterlagerte Regelkreise auf ihren Sollwerten gehalten. Die DCU stellt hierfür entsprechende Standard Regelbausteine zur Verfügung. Um eine Online-Prozessführung realisieren zu können, ist es jedoch nicht ausreichend, nur die Regelgrößen direkt zu messen. Die zeitnahe Bestimmung sogenannter Zustandsgrößen, die in der Lage sind den aktuellen Prozesszustand zu beschreiben, sind gleichfalls essentiell. Bei den im folgenden Abschnitt beschriebenen Analysemethoden handelt es sich jedoch um Messverfahren, deren Ergebnisse frühestens 20 – 30 Minuten nach der Probenahme verfügbar sind und somit für eine Online-Prozessführung nur indirekt in Frage kommen. Aus diesem Grund müssen direkt messbare Signale so weiterverarbeitet werden, dass eine verlässliche Information über den aktuellen Wert der für den Prozess charakteristischen Zustandsgrößen entsteht.

Standard Messtechnik

Zur Überwachung der Regelgrößen wurden in den Experimenten die folgenden Sensoren verwendet [12]:

- **Temperatur:** Pt-100 Temperaturfühler
- **Druck:** PHILLIPS Drucksensor Typ: 9404 und WIKA Barometer
- **Rührgeschwindigkeit:** Tachometer
- **Masse:** Wägezellen HBM, Typ: Z6FD1 und Sartorius Waage

Messung der Leitfähigkeit

Die Leitfähigkeit wird kontinuierlich mit dem Konverter Control 200 der Firma Optek gemessen. Die Messsonde wird mit Wechselspannung betrieben und liefert als Ausgangssignal einen Strom, über den die Leitfähigkeit des Reaktorinhalts bestimmt wird. Aufgrund der mikrobiellen Aktivität sinkt der pH-Wert im Prozessverlauf ab. Da die Prozessbedingungen ab Erreichen eines vorgegebenen pH-Werts einen konstanten pH-Wert erfordern, wird ein weiteres Absinken durch das Zudosieren von Natronlauge verhindert. Dadurch steigt die Leitfähigkeit des Mediums an und gibt somit ab dem Zeitpunkt der Laugenzudosierung einen Aufschluss über die intern ablaufenden mikrobiologischen Prozesse.

Messung des pH-Werts

Zur Messung des pH-Werts wird ein Sensor der Firma Ingold eingesetzt. Dabei wird das chemische Potential der äußeren Glasoberfläche gemessen und das Messsignal über einen Messverstärker skaliert. Zu Prozessbeginn sinkt der pH-Wert des Mediums ab. Bis der vordefinierte pH-Wert erreicht ist, kann über die zeitliche Abnahme des pH-Werts auf interne Prozesszustände rückgeschlossen werden.

3.4.2 Methoden der Offline-Analyse

Die für eine aussagekräftige Beschreibung des Fermentationsprozesses notwendigen Kenntnisse über Medienkomponenten (Laktat, Laktose) und Keimzahl können nur mit Hilfe von Offline-Analysen bestimmt werden. Es gibt zwar Möglichkeiten, mit Hilfe von Trübungssonden die Biomasse über die Methode der optischen Dichte in situ zu bestimmen, allerdings sind die erhaltenen Resultate im vorliegenden Fall nicht zu gebrauchen. Das verwendete Medium weist schon zu Fermentationsbeginn eine starke Trübung auf, die sich im weiteren Prozessverlauf trotz der zunehmenden Bakteriendichte nur noch geringfügig ändert. Eine weitere Möglichkeit der direkten Biomassenbestimmung im Prozess ist die Methode der Impedanzspektroskopie [23], die aktuell jedoch noch nicht universell eingesetzt wird.

Bestimmung der Zellzahl

Die Bestimmung der Keimzahl des Bakteriums *Streptococcus thermophilus* erfolgt entsprechend einer Anweisung aus [50]. Jede Probe muss direkt nach der Probenahme gekühlt und sofort aufbereitet werden, um ein weiteres Wachstum der Bakterien zu verhindern. Für die Aufbereitung wird eine Verdünnungslösung angesetzt und

die Probe im Verhältnis 1/99 gemischt. Je nach erwartetem Ergebnis werden die resultierenden Lösungen entsprechend weiter verdünnt, so dass für eine erwartete Keimzahl von $c_X = n \cdot 10^6$ sechs Verdünnungsreihen angesetzt werden. Im Anschluss an die Probenaufbereitung werden sowohl 1ml als auch 0.1ml der Lösung in sterile Petrischalen gegeben. Danach wird verflüssigter Lactic-Ager zugegeben, der als wachstumsfördernde Agenzien Gelatine und Ascorbinsäure enthält und als Nährboden dient. Im Anschluss werden die Petrischalen für drei Tage im Brutschrank bei $36 - 38^\circ\text{C}$ gelagert. Um einen Wert für die Keimzahl zu erhalten, werden nach Abschluss der Inkubation sämtliche mit dem Auge sichtbaren Kolonien ausgezählt, der Mittelwert aus den zur selben Probe gehörenden Analysenergebnisse gebildet und dieser mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert. Das Ergebnis wird in *CFU* (*Colony Forming Units*) angegeben. Abbildung 3.5 zeigt die Keimbildung in einer Petrischale nach Abschluss der Inkubation.

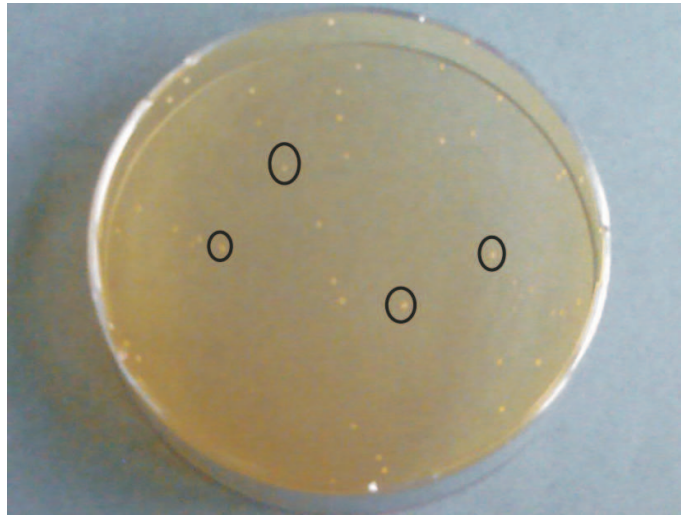


Abb. 3.5: Petrischale nach der Inkubation. Die gebildeten Kolonien sind an den weißen Punkten zu erkennen. Zur besseren Kenntlichmachung sind einige Kolonien mit einer schwarzen Umrandung gekennzeichnet.

Bestimmung der Medienkomponenten Laktose und Laktat

Die Konzentration des Substrats Laktose und des Produkts Laktat im Medium wird mit Hilfe einer HPLC-Anlage bestimmt. Für die Analyse der Medienkomponenten wurden dabei 10 μ l des zellfreien Überstandes mittels einer Ionenaustauschsäule aufgetrennt.

Die **High Performance Liquid Chromatography**-Analyse ist ein chromatographisches Verfahren, welches zur Identifikation und Quantifizierung unterschiedlicher Substanzen verwendet wird. Dabei wird eine flüssige Probe des zu untersuchenden Mediums mit Hilfe eines Eluenten durch eine Trennsäule gespült. Während des Durchlaufs kommt es zu Wechselwirkungen zwischen den in der Probe enthaltenen Substanzen und der stationären Phase der Trennsäule. Je stärker diese Wechselwirkungen sind, desto länger verbleibt die entsprechende Substanz in der Säule. Dadurch ergeben sich für verschiedene Substanzen unterschiedliche Durchlaufzeiten.

Am Ende der Säule wird mit Hilfe eines Detektors (RI-Detektor) kontinuierlich der Brechungsindex bestimmt. Die daraus resultierenden Messwerte ergeben ein Chromatogramm. Mit Hilfe der Zeit, die vom Beginn der Analyse bis zum Auftreten eines Peaks im Chromatogramm vergangen ist, kann man eine Aussage über den dem Peak zuzuordnenden Medienbestandteil treffen. Um daraus die Konzentration der gesuchten Komponente im Medium ableiten zu können, wird die Fläche unter dem zugehörigen Peak bestimmt. Diese Fläche verhält sich proportional zur Konzentration. Da zu Beginn der Untersuchungen ein externer Standard bekannter Konzentration analysiert wurde, kann ein quantitatives Resultat ermittelt werden.

Die Messergebnisse bei dieser Analysemethode hängen stark von der mit zunehmender Nutzungsdauer abnehmenden Qualität der verwendeten Säule ab. Um die Nutzungsdauer zu erhöhen wird eine Vorsäule vorgeschaltet, die Verunreinigungen in der Probe abfängt.

3.5 Messunsicherheiten und deren Konsequenzen

Die Bestimmung der Konzentration der in der abiotischen Phase des Ferments vorhandenen Medienbestandteile wird mit den im vorigen Abschnitt beschriebenen Analysemethoden durchgeführt. Es muss dennoch damit gerechnet werden, dass die Auswertungen der Analyse fehlerbehaftet sind. Abbildung 3.6 zeigt die Ergebnisse zweier Analysen derselben Probe in Bezug auf die Substanzen Laktose und Laktat.

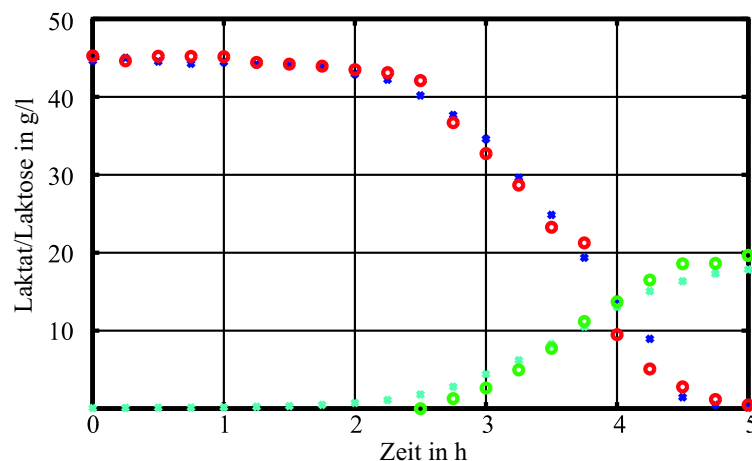


Abb. 3.6: Ergebnisse zweier Analysen derselben Probe auf die Substanzen Laktose (o,*) und Laktat (o,*).

Dabei ist offensichtlich, dass die beiden ermittelten Messwerte voneinander abweichen. Diese Differenzen lassen sich darauf zurückführen, dass die beiden HPLC-Analysen mit unterschiedlichen Säulen durchgeführt worden sind. Da die Trennsäule im Laufe ihrer Betriebsdauer verschleißt, nimmt die Messunsicherheit im Analyseergebnis zu. Aus Kostengründen ist es jedoch nicht möglich, jede Analyse mit neuen Säulen durchzuführen und somit sind diese Messunsicherheiten nicht zu vermeiden. Des Weiteren treten bei der Analyse des Mediums gelegentlich Messwerte weit abseits der erwarteten und biologisch sinnvollen Werte auf. Diese Ausreißer können auf Fehler bei der Probenahme, im Laborbetrieb sowie auf Kondenswasser in der Probenahmeeinrichtung zurückgeführt werden. Hierdurch wird die Probe schon vor der eigentlichen Analyse verfälscht. Für die Auswertung bedeutet dies, dass sämtliche ermittelten Messwerte kritisch zu hinterfragen sind und Ausreißer eliminiert werden müssen.

Deutlich schwieriger als die Interpretation der HPLC-Daten stellt sich die Analyse der Messdaten dar, die sich bei der Bestimmung der Zellzahl ergeben. Diese Messdaten basieren, wie bereits in Abschnitt 3.4.2 erläutert, auf einer Mehrfachbestimmung ein und derselben Probe. Bei der Analyse einer Probe zu einem definierten Zeitpunkt t_i

kann die bei der Auszählung ermittelte Anzahl an Kolonien bis zu 30% streuen. Abbildung 3.7 zeigt die Ergebnisse der Zellzahlbestimmung anhand eines Batchversuches. Dabei wurde dem Fermenter alle 15 Minuten eine Probe entnommen und die Keimzahlanalyse durchgeführt. Im Diagramm sind die Resultate von 3 unterschiedlichen Keimzahlauszählungen der entsprechenden Probe in logarithmischer Darstellung aufgetragen. Die Abweichungen der maximal und minimal ermittelten Keimzahlen vom errechneten Mittelwert sind in Abb. 3.8 zu sehen.

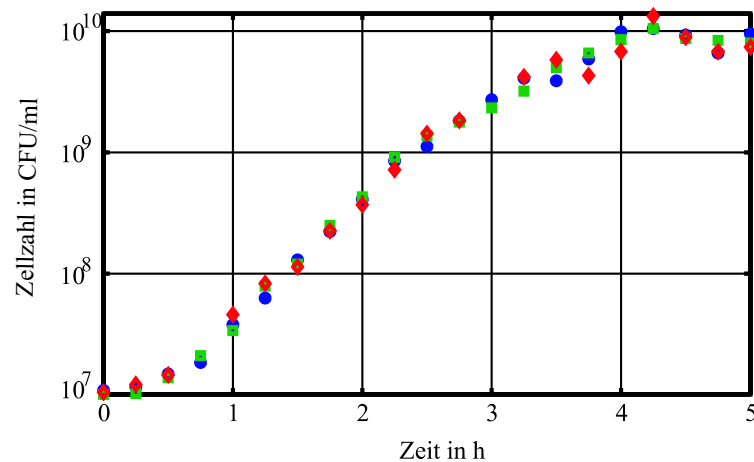


Abb. 3.7: Logarithmische Darstellung der Ergebnisse von Keimzahlauszählungen (Mehrfachbestimmung der Keimzahl aus drei unterschiedlichen Petrischalen).

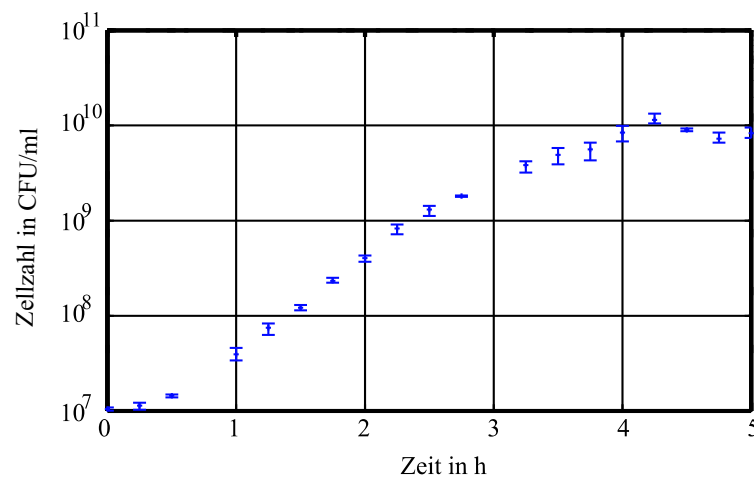


Abb. 3.8: Logarithmische Darstellung der Keimzahl (Mittelwert der Auszählung von 3 Petrischalen; zusätzlich ist der ermittelte maximale und minimale Wert der Keimzahl eingezeichnet).

Beide Diagramme machen deutlich, dass sich die Auszählungsergebnisse ein und derselben Probe stark unterscheiden können. Des weiteren kann man erkennen, dass auch der als Wert der Keimzahl im Regelfall festgelegte Mittelwert aller zugehörigen Keimzahlen von den maximal bzw. minimal ermittelten Werten deutlich abweichen kann.

Trotz der fehlerbehafteten Ergebnisse verfolgt die Modellbildung das Ziel, basierend auf den zur Verfügung stehenden experimentellen Resultaten ein mathematisches Modell zu entwickeln. Dieses Modell soll den Verlauf sämtlicher unter nahezu identischen Umgebungsbedingungen ablaufender Fermentationen hinreichend genau nachbilden. Darauf basierend soll dann eine Prozessführung realisiert werden.

Kapitel 4

Modellbildung

4.1 Methoden der Modellierung biotechnologischer Prozesse

Biotechnologische Prozesse können mit Hilfe moderner Prozessführungskonzepte in einer vorgegebenen Weise beeinflusst werden. Für die Realisierung dieser Konzepte sind mathematische Modelle, die den Prozessverlauf hinreichend gut beschreiben, eine essentielle Voraussetzung. Dabei versucht man, diejenigen Einflussgrößen zu bestimmen, die den biologischen Wachstumsprozess am stärksten beeinflussen. Diese werden zueinander in einen mathematischen Zusammenhang gesetzt und man erhält dadurch eine Modellbeschreibung, die den realen Prozess innerhalb gewisser Grenzen abbildet. Dabei gelingt es meist, das qualitative Prozessverhalten phänomenologisch nachzubilden.

In einem ersten Schritt wird der Inhalt des Reaktors in zwei Phasen unterteilt. Man unterscheidet dabei zwischen der biotischen Phase, die die Biomasse enthält und der abiotischen Phase, die aus den restlichen Bestandteilen des Fermenterinhalts besteht. Diese Differenzierung ist in Abb. 4.1 graphisch dargestellt.

Für die Modellierung der biotischen Phase wurden verschiedene Konzepte propagiert [21]. Diese unterscheiden sich in Art und Weise der Betrachtung des Gesamtsystems. Ein einfaches, oftmals für eine qualitative Prozessführung ausreichendes Modellierungskonzept ist die Methode des 'unstrukturierten Modells'. In den letzten Jahren gibt es jedoch immer mehr Versuche, den intrazellulären Metabolismus mathematisch zu beschreiben [9, 10]. Diese Ansätze führen zu den sogenannten strukturierten Modellen. Die Unterscheidung zwischen strukturierten Modellen einerseits und unstrukturierten Modellen andererseits sowie die Übergänge zwischen den beiden Modellierungsansätzen sind in Abb. 4.2 gezeigt. Im *unstrukturierten Modell* wird die Biomasse als einziges, homogenes Element betrachtet. Ihre Gesamtheit setzt sich aus den einzelnen im Medium vorhandenen Zellen zusammen. Diese verhalten sich alle in der gleichen Weise und sind abhängig von der Konzentration der Biomasse im Medium und der Konzentration der einzelnen Medienbestandteile. Dieser Ansatz führt zu einer vereinfachten Darstellung in Form eines 'Black Box' Modells.

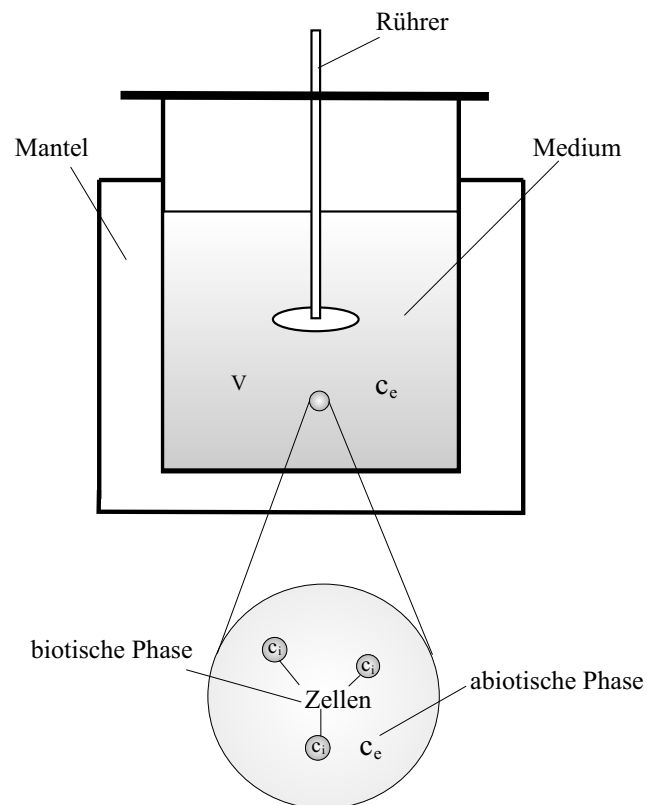


Abb. 4.1: Graphische Darstellung der biotischen und abiotischen Phase in einem Batchreaktor.

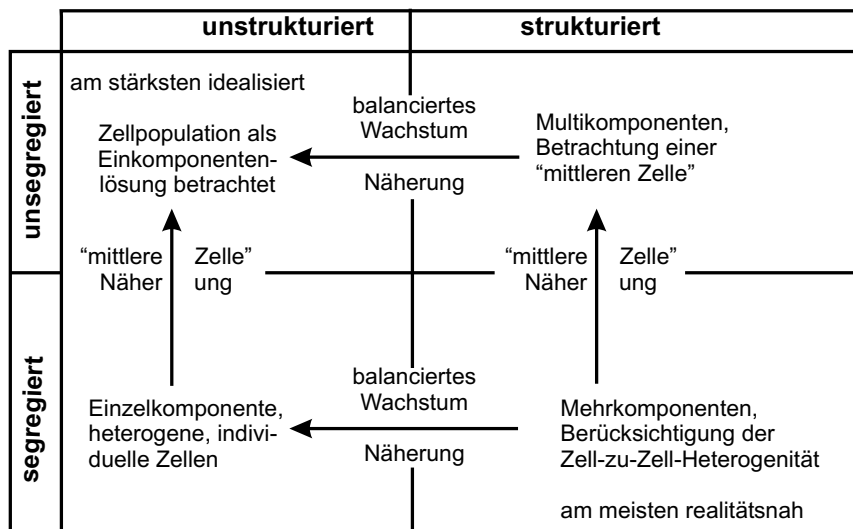


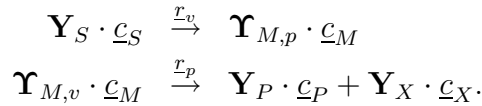
Abb. 4.2: Vereinfachende Annahmen für Zellpopulationen [43].

Im Gegensatz zum unstrukturierten Modellansatz wird bei der *strukturierten Modellierung* die Biomasse in verschiedene Kompartimente unterteilt. Diese haben jeweils eigene, spezielle Eigenschaften und rufen unterschiedliche biochemische Reaktionen hervor [43].

Da im strukturierten Modell auch intrazelluläre Vorgänge berücksichtigt werden, diese jedoch messtechnisch nur schwer zugänglich sind, konzentriert sich diese Arbeit im weiteren Verlauf darauf, ein qualitatives unstrukturiertes Modell zu entwickeln, welches sich für den Einsatz in der Prozessführung eignet.

4.1.1 Das makroskopische Reaktionsschema

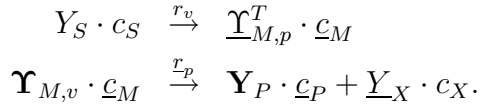
Bei einem bakteriellen Wachstumsprozess wird das für das Zellwachstum notwendige Substrat in der Zelle verstoffwechselt. Der Stoffwechselvorgang führt dabei in der Regel zuerst zur Bildung intrazellulärer Metaboliten, die beispielsweise durch das Aufspalten von Substrat entstehen. Die gebildeten Metaboliten reagieren in einem weiteren Reaktionsschritt zu Stoffwechselprodukten, die danach aus der Zelle ausgeschieden werden und im Medium verbleiben. Die bei diesem Vorgang freigesetzte Energie führt zum Zellwachstum. Das allgemeine Reaktionsschema eines biochemischen Prozesses ergibt sich demnach zu



Dabei werden Substrate aufgenommen und die intrazellulären Metaboliten \underline{M} mit den Reaktionsgeschwindigkeiten \underline{r}_v gebildet. Die N weiteren Reaktionen, die die Umwandlung der Metaboliten in die Stoffwechselprodukte und das Zellwachstum beschreiben, laufen mit den Reaktionsgeschwindigkeiten $\underline{r}_p, p = 1, \dots, N$ ab. Die Matrizen $\mathbf{\Upsilon}_i, i = (M, p), (M, v)$ und $\mathbf{Y}_i, i = S, P, X$ beschreiben die Ausbeute der einzelnen intra- ($\mathbf{\Upsilon}$) und extrazellulären (\mathbf{Y}) Reaktionspartner bei der jeweils betrachteten Reaktion und werden daher als Matrizen der Ausbeutekoeffizienten bezeichnet. Die Indizes p und v geben an, ob der zugehörige Metabolit produziert oder verbraucht wird.

Geht man davon aus, dass nur ein Substrat als Ausgangsstoff zur Verfügung steht und ausschließlich über einen Reaktionspfad mit der Geschwindigkeit r_v abgebaut wird, reduziert sich die zugehörige Ausbeutematrix \mathbf{Y}_S auf ein Skalar. Im weiteren Verlauf wird dieser Skalar gemäß der zu Grunde liegenden Notation mit Y_S bezeichnet. Die Matrix der im ersten Reaktionspfad produzierten M Metaboliten, $\mathbf{\Upsilon}_{M,p}$, wird zu einem Vektor und erhält entsprechend die Bezeichnung $\underline{\Upsilon}_{M,p}^T$. Die Ausbeutematrix der Biomasse ist, da nur das Zellwachstum eines Organismus betrachtet wird,

ebenfalls eine vektorielle Größe. Im weiteren Verlauf wird daher die Bezeichnung \underline{Y}_x verwendet. Das zugehörige Reaktionsschema lautet dann



Reduziert man im weiteren Verlauf die Betrachtung auf einen reinen Batchprozess, so lassen sich Konzentrationsänderungen der einzelnen Komponenten durch den ablaufenden Reaktionspfad beschreiben. Die Bildung einer Massenbilanz für jedes individuelle Element führt auf ein System von Differentialgleichungen, die von den Reaktionsgeschwindigkeiten und den Ausbeutekoeffizienten abhängen,

(4.1)

$$\frac{dc_S}{dt} = -Y_S \cdot r_v \quad (4.2)$$

$$\frac{d\underline{c}_P}{dt} = \mathbf{Y}_P^T \cdot \underline{r}_p \quad (4.3)$$

$$\frac{d\underline{c}_M}{dt} = \underline{\Upsilon}_{M,p} \cdot r_v - \Upsilon_{M,v}^T \cdot \underline{r}_p \quad (4.4)$$

$$\frac{dc_X}{dt} = \underline{Y}_X^T \cdot \underline{r}_p \quad (4.5)$$

Die Matrix der Ausbeutefaktoren \mathbf{Y}_e der extrazellulären Komponenten ergibt sich somit zu

$$\mathbf{Y}_e = \begin{bmatrix} -Y_S & \underline{0}^T \\ \underline{0} & \mathbf{Y}_P^T \\ 0 & \underline{Y}_X^T \end{bmatrix}, \quad (4.6)$$

während sich die Matrix der intrazellulären Ausbeutefaktoren Υ_i als

$$\Upsilon_i = \begin{bmatrix} \underline{\Upsilon}_{M,p} & -\Upsilon_{M,v}^T \end{bmatrix} \quad (4.7)$$

darstellen lässt. Damit ergibt sich das Differentialgleichungssystem zu

$$\frac{d}{dt} \begin{bmatrix} c_S \\ \underline{c}_P \\ c_X \\ \underline{c}_M \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{Y}_e \\ \Upsilon_i \end{bmatrix} \begin{bmatrix} r_v \\ \underline{r}_p \end{bmatrix}. \quad (4.8)$$

Um von diesen mikroskopischen Reaktionsgleichungen, in denen die intrazellulären Metaboliten \underline{M} enthalten sind, auf ein makroskopisches Reaktionsschema übergehen zu können, werden einige Annahmen gemacht. Diese führen zu einer vereinfachten Darstellung des Reaktionsschemas.

Die Annahme eines quasi-stationären Zustandes der Zwischenprodukte einer Reaktion, die sogenannte Bodenstein-Semenov-Kinetik [54], besagt, dass ein bei einer Reaktion vorkommendes Zwischenprodukt sehr viel schneller verbraucht als gebildet wird. Es wird somit davon ausgegangen, dass die in der Zelle statt findenden Reaktionen, sehr viel schneller sind, als die Reaktionen, bei denen Komponenten der abiotischen Phase beteiligt sind. Das führt dazu, dass sich die Konzentrationen der Metaboliten in der Zelle in einem quasistationären Zustand befinden. Daraus folgt, dass

$$\frac{d}{dt}c_M = 0 \quad (4.9)$$

gilt. Damit ergibt sich für Gleichung 4.4

$$\Upsilon_{M,p} \cdot r_v = \Upsilon_{M,v}^T \cdot \underline{r}_p \quad . \quad (4.10)$$

Nimmt man nun weiter an, dass die Metaboliten bei den Reaktionen vollständig umgesetzt werden, so gilt für deren Ausbeutekoeffizienten $\Upsilon_{M,i}, i = v, p$

$$\begin{aligned} \Upsilon_{1,p} &= \sum_{k=1}^N \Upsilon_{1,v,k} \\ &\vdots \\ \Upsilon_{M,p} &= \sum_{k=1}^N \Upsilon_{M,v,k} \quad , \end{aligned} \quad (4.11)$$

wobei N die Anzahl der Reaktionen und M die Anzahl der beteiligten Metaboliten angibt.

Für die Reaktionsgeschwindigkeiten ergibt sich

$$r_v \cdot \begin{bmatrix} 1 \\ \vdots \\ 1 \end{bmatrix} \geq \underline{r}_p \quad (4.12)$$

Das bedeutet, dass die Reaktionsgeschwindigkeit der Primärreaktion die limitierende Größe ist. Die Metaboliten können in den folgenden Reaktionen nicht schneller umgesetzt werden als sie durch die erste Reaktion produziert werden.

Basierend auf diesen Annahmen lässt sich die makroskopische Reaktion, welche nur noch die in der abiotischen Phase vorkommenden Stoffe enthält als

$$Y_S c_S \xrightarrow{r_v} \underline{Y}_P^T \cdot \underline{c}_P + Y_X \cdot c_X \quad . \quad (4.13)$$

angeben. Der Vektor \underline{c}_P enthält die Konzentrationen aller Produkte, die in der Reaktion gebildet werden. Das entsprechende Differentialgleichungssystem reduziert sich zu

$$\frac{d}{dt} \begin{bmatrix} c_X \\ c_S \\ \underline{c}_P \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} Y_X \\ -Y_S \\ \underline{Y}_P \end{bmatrix} \cdot r_v \quad . \quad (4.14)$$

Das Wachstumsmodell hängt somit nur noch von den einzelnen Ausbeutekoeffizienten Y_i sowie der Reaktionsgeschwindigkeit r_v ab, die mit Hilfe eines modellkinetischen Ansatzes bestimmt wird.

4.1.2 Entwicklung der Modellkinetik

Die spezifische Reaktionsgeschwindigkeit ist meistens eine komplexe Funktion der Arbeits- und Umgebungsbedingungen im Fermenter und der Prozesszustände. Da es nicht möglich ist, jede Einflussgröße hinreichend exakt zu beschreiben, wird ein einfaches Modell verwendet, welches dennoch eine qualitativ hochwertige Prozessbeschreibung ermöglicht. Als Ansatz dient der bereits in Abschnitt 4.1 erwähnte unstrukturierte Modellansatz. Im unstrukturierten Modellansatz wird davon ausgegangen, dass sich die Reaktionsgeschwindigkeit r als Produkt aus der Wachstumsgeschwindigkeit μ und der Konzentration der Biomasse c_X darstellen lässt,

$$r = \mu(c_S, c_P) \cdot c_X \quad , \quad (4.15)$$

wobei die Wachstumsgeschwindigkeit von den Konzentrationen der einzelnen Substanzen im Medium abhängt. Die spezifische Wachstumsrate lässt sich über das klassische Modell von Monod bestimmen [46]. Dabei wird die von Michaelis und Menten eingeführte Enzymkinetik auf das Zellwachstum übertragen. Es werden, zusätzlich zur maximalen Wachstumsgeschwindigkeit μ_{max} , je nach Prozess weitere Terme eingeführt, die eine entsprechende Substratlimitierung beziehungsweise Produktinhibition berücksichtigen. Die Limitierung des Wachstums auf Grund einer zu geringen Menge an Substrat im Medium wird durch den Limitierungsterm

$$\psi_{lim} = \frac{c_S}{c_S + K_S} \quad (4.16)$$

bestimmt, wobei der Parameter K_S als Limitierungskonstante bezeichnet wird. Die Inhibierung des Wachstums, die durch eine zu hohe Konzentration des Produktes im Medium hervorgerufen wird, geht über den Inhibierungsterm

$$\psi_{inhib} = \frac{K_P}{K_P + c_P} \quad (4.17)$$

mit der Inhibierungskonstanten K_P in das Modell ein. Die reaktionsspezifische Wachstumsgeschwindigkeit bei einer Reaktion mit N Komponenten ergibt sich dann als Produkt der einzelnen Terme zu

$$\mu(P, S) = \mu_{max} \prod_{j=1}^N \psi_j \quad . \quad (4.18)$$

Abhängig vom entsprechenden Medienbestandteil lässt sich der Limitierungs- bzw. Inhibierungsterm als

$$\psi_i = \begin{cases} \frac{c_{S,i}}{c_{S,i} + K_{S,i}} & \text{falls Komponente } i \text{ Substrat} \\ \frac{K_{P,i}}{K_{P,i} + c_{P,i}} & \text{falls Komponente } i \text{ Produkt} \end{cases}$$

darstellen. Je nach gewähltem Modellansatz kann die Wachstumsgeschwindigkeit noch durch zusätzliche Terme beeinflusst werden, welche beispielsweise die Anlaufphase zu Beginn des Stoffwechselprozesses und den Erhaltungsstoffwechsel gegen Prozessende detailliert beschreiben. Diese Ansätze sind in der Arbeit von Barth beschrieben [4].

4.2 Methodik der Parameterschätzung

Im vorigen Abschnitt wurde eine Möglichkeit aufgezeigt, biologische Wachstumsprozesse über reaktionskinetische Vorgänge mathematisch zu beschreiben. Das mathematische Modell besteht meist aus einer Reihe gekoppelter Differentialgleichungen. Diese werden durch modellspezifische Terme charakterisiert, die von freien Parametern abhängig sind.

Die Aufgabe der Parameteridentifikation ist die Bestimmung eines Parametersatzes \underline{p} , der die bestmögliche Übereinstimmung zwischen Simulationsergebnissen und ermittelten Messdaten gewährleistet.

Diese Problemstellung lässt sich als nichtlineares Optimierungsproblem formulieren.

Um es zu lösen stehen eine Vielzahl verschiedener Algorithmen zur Verfügung, die ein vorgegebenes Gütefunktional J ,

$$J = f(\underline{p}) \quad , \quad (4.19)$$

minimieren. Dabei ist das Gütefunktional der skalare Wert einer Bewertungsfunktion f , die angibt, wie exakt ein definiertes Ziel erreicht wird. Im Falle der Parameterschätzung wird dabei die Anpassung des Modells an reale Messdaten bewertet. Ausgehend von einem Ausgangsdatensatz \underline{p}_0 werden über eine Optimierungsfunktion iterativ neue Datensätze erzeugt, die das Kriterium weiter minimieren, bis schließlich ein minimaler Wert ermittelt worden ist. Besonders geeignete Kriterien sind unter anderem das *Least-Squares-Verfahren*, welches im Folgenden kurz erläutert wird und die *Maximum-Likelihood-Schätzung*.

4.2.1 Definition geeigneter Gütefunktionale

'Least-Squares-Verfahren'

Die Methode der kleinsten Fehlerquadrate [17] ist eine häufig verwendete Methode zur Bestimmung eines Gütefunktional. Dabei ist das betreffende Gütefunktional als

$$J = \sum_{i=1}^N \left(\underline{y}_i - \underline{\bar{y}}_i(\underline{p}) \right)^T \cdot \left(\underline{y}_i - \underline{\bar{y}}_i(\underline{p}) \right) \quad (4.20)$$

definiert. In das Gütefunktional geht ein aus dem Versuch an N diskreten Zeitpunkten ermittelter realer Messdatensatz, der aus den zum Zeitpunkt $t = i$ ermittelten Messdaten \underline{y}_i , $i = 1, \dots, N$, besteht, ein. Davon werden die mit Hilfe der Modellvorstellung simulierten Werte $\underline{\bar{y}}_i(\underline{p})$, die vom Parametersatz \underline{p} abhängen, subtrahiert. Dadurch erhält man für jeden diskreten Zeitpunkt einen Vektor, der die Differenz zwischen realen und simulierten Werten enthält. Die Quadrate des euklidischen Abstands der Vektoren \underline{y}_i und $\underline{\bar{y}}_i(\underline{p})$ zum Zeitpunkt i werden bestimmt und aufsummiert. Das Resultat gibt einen Aufschluss über die Güte der Modellvorstellung.

Die Optimierungsaufgabe besteht darin, den speziellen Parametersatz zu finden, der in der Summe über alle Messwerte die Differenz zwischen realem Messwert und simuliertem Wert minimiert.

Diese Methode besitzt den Nachteil, dass, falls der Messdatensatz Elemente in unterschiedlichen numerischen Wertebereichen enthält, ein verfälschtes Ergebnis erzielt werden kann. Aufgrund der hohen Differenz der Absolutwerte bei Messwerten in hohen numerischen Wertebereichen wird eine Minimierung dieser Differenz bevorzugt, auch wenn gleichzeitig die Differenz bei Messwerten in kleineren Wertebereichen überproportional ansteigt. Das bedeutet, dass eine Wichtung hin zu größeren numerischen Werten existiert. Dieser Effekt ist in Abb 4.3 illustriert.

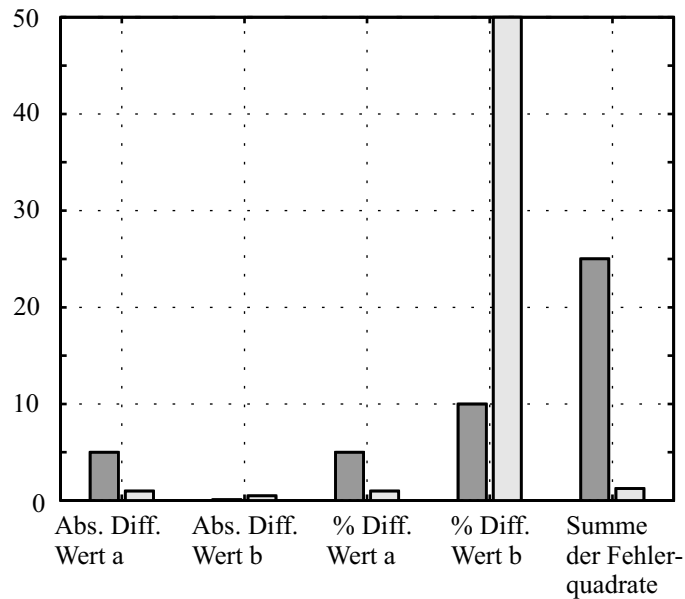


Abb. 4.3: Graphische Darstellung der Entwicklung des kleinsten Fehlerquadrates bei gleicher Gewichtung von Messwerten in unterschiedlichen numerischen Wertebereichen. Ausgangswerte: 100 (Wert a) und 1 (Wert b).

Fall 1 (dunkel): Änderung von Wert a um 5% und von Wert b um 10%.

Fall 2 (hell): Änderung von Wert a um 1% und von Wert b um 50%.

In dieser Darstellung kann man erkennen, wie die Summe der Fehlerquadrate abnimmt, wenn die Differenz des Messwertes, der im hohen numerischen Wertebereich liegt, geringer wird. Obwohl die Differenz des Messwertes, dessen numerischer Wert deutlich niedriger ist, prozentual stark ansteigt, hat dies keinen sichtbaren Einfluss auf die Summe der Fehlerquadrate.

Um diese Problematik zu umgehen, wird eine entsprechende Gewichtungsmatrix $\mathbf{W} = \text{diag}\{w_1 \cdots w_N\}$ eingeführt, die den Einfluss der unterschiedlichen numerischen Wertebereiche kompensiert. Das Gütefunktional der Weighted-Least-Squares-Methode ergibt sich somit zu [65]

$$J = \sum_{i=1}^N \left[\underline{y}_i - \underline{\bar{y}}_i(\underline{p}) \right]^T \mathbf{W} \left[\underline{y}_i - \underline{\bar{y}}_i(\underline{p}) \right] \quad . \quad (4.21)$$

Die Einstellung der Gewichte hängt vom jeweiligen Identifikationsproblem ab. Dabei handelt es sich um einen iterativen Prozess, der mehrfach durchlaufen werden muss. Dieses Vorgehen führt dazu, dass eine Parameteridentifikation mit dem Weighted-Least-Squares-Verfahren im Allgemeinen sehr zeitaufwändig ist.

4.2.2 Optimierungsverfahren

Das Ziel einer Optimierung ist die Bestimmung eines optimalen Parametersatzes \underline{p}^o , welcher ein definiertes Gütefunktional $J(\underline{p})$ minimiert. Dabei wird zwischen einem globalen und einem lokalen Minimum unterschieden. Streng konvexe Funktionen besitzen nur ein einziges, globales Minimum beziehungsweise Maximum. Nicht-konvexe Funktionen hingegen können mehrere lokale Minima und Maxima besitzen und nur der kleinst- bzw. größtmögliche Funktionswert stellt die globalen Extrema dar. Im optimalen Fall ist der bestimmte Extremwert ein globales Minimum, allerdings ist kaum ein Optimierungsalgorithmus in der Lage, ein globales Minimum als Ergebnis zu garantieren. Dann müsste jeder einzelne Punkt im Funktionsbereich einzeln auf seinen Funktionswert untersucht werden, was zu einer unendlich große Menge an Funktionsauswertungen führen würde. Bei konvexen Funktionen, die im Bereich des Extremums sehr flach verlaufen ist es ebenfalls kaum möglich den exakten Wert des Minimums zu bestimmen.

Optimierungsalgorithmen arbeiten iterativ. Dabei wird ausgehend von einem Ausgangsparametersatz \underline{p}_0 mit Hilfe mathematischer Operationen ein neuer Parametersatz \underline{p}_1 generiert und der dazugehörige Funktionswert $J(\underline{p}_1)$ berechnet. Die Art und Weise, wie der neue Parametersatz bestimmt wird, hängt vom verwendeten Algorithmus ab. Unabhängig davon, sollten jedoch alle Optimierungsalgorithmen über folgende Eigenschaften verfügen [48]:

- **Robustheit.** Der Algorithmus ist für viele verschiedenen Probleme und viele unterschiedliche Anfangsbedingungen einsetzbar.
- **Effizienz.** Der Algorithmus benötigt kurze Rechenzeit und wenig Speicherplatz.
- **Genauigkeit.** Der Algorithmus sollte in der Lage sein, eine exakte Lösung zu generieren ohne gegenüber Messfehlern und arithmetischen Rundungsfehlern zu sensitiv zu reagieren.

Die verschiedenen Optimierungsverfahren lassen sich unterschiedlichen Kategorien zuordnen. Der Gradienten-Methode, die schnell in lokalen Extrema konvergiert; der robusteren Methode der direkten Suche (direct search method), der auch der bekannte Simplex-Algorithmus zugerechnet wird; der Methode der globalen Optimierung, die zwar langsamer als die Gradienten-Methode konvergiert, andererseits aber mit einer größeren Wahrscheinlichkeit ein globales Optimum findet; der Methode der evolutionären Algorithmen, die empirisch ein Extremum bestimmt und der stochastischen Verfahren.

Gradientenmethode

Bei der Gradientenmethode [18, 25, 52] wird die Ableitung des Gütefunktional \mathbf{J} nach dem gesuchten Parametersatz (\underline{p}) berechnet, mit dem Ziel, diesen Operator zu null werden zu lassen,

$$\nabla \mathbf{J}(\underline{p}) = 0 \quad . \quad (4.22)$$

Die Art und Weise der Suche nach dem nächsten Parametersatz, hängt vom verwendeten Algorithmus ab. Die *steepest descent* Methode sucht entlang der Linie mit der größten negativen Steigung nach einem neuen Parametersatz, dessen Wert im Gütefunktional geringer ist als der Ausgangswert.

Verschiedene speziellere Algorithmen verwenden die Gradientenmethode in abgewandelter Form. Dabei ist in erster Linie die modifizierte *Newton Methode* zu nennen [48]. Für die nicht-lineare Methode der kleinsten Fehlerquadrate ist unter anderem der *Levenberg-Marquardt Algorithmus* eine gute Wahl, der eine Mischung aus modifizierter *Newton Methode* und *steepest descent* Methode darstellt und die Vorteile beider Methoden vereinigt.

Methode der direkten Suche

Im Gegensatz zum Gradientenverfahren verwendet die Methode der direkten Suche nicht die Ableitungen des Gütefunktional. Statt dessen werden für die Suche nach einem Extremum die ermittelten Funktionswerte verwendet. Diese Optimierungsmethode wurde erstmals von Hooke und Jeeves [27] beschrieben und lässt sich in drei Kategorien unterteilen, *pattern search method*, *simplex method* und *methods with adaptive sets of search directions* [44].

Bei der *pattern search method* [15] wird eine Gitterstruktur erstellt, deren Auflösung durch die Schrittweite vorgegeben ist. Danach wird das Verhalten des Gütefunktional an den einzelnen Gitterpunkten untersucht. Jede Parameteränderung hat eine erneute Evaluierung des Gütekriteriums zur Folge. Ist eine Verbesserung des Funktional durch eine Veränderung der Parameter nicht gegeben, so wird die Schrittweite verkleinert und eine weitere Suche schließt sich an.

Bei der *simplex method* handelt es sich um eine geführte Suche, die von Spendley entwickelt wurde [61]. Dabei wird im \mathbb{R}^n ein sogenannter Simplex aus $n + 1$ Punkten aufgespannt, der die Suche führt. Jeder Punkt im \mathbb{R}^n kann als Linearkombination der den Simplex aufspannenden Basisvektoren dargestellt werden. Nach dem Festlegen des Simplex wird iterativ der Punkt des Simplex mit dem niedrigsten Funktionswert durch Spiegelung an der Mitte der gegenüberliegenden Seite ersetzt. Handelt es sich bei diesem Punkt immer noch um den Punkt mit dem niedrigsten Funktionswert,

so wird mit demjenigen fortgefahren, der den zweitniedrigsten Wert aufweist, da ansonsten eine unendliche Schleife entsteht. Das Ziel dieser Suche ist es, den bisher besten Wert des Simplex durch einen neuen Punkt mit niedrigerem Funktionswert zu ersetzen. Die Form des Simplex bleibt dabei immer erhalten. Eine Weiterentwicklung dieser Methode durch Nelder und Mead [47] führte zu einem der populärsten und am weitesten verbreiteten Optimierungsalgorithmen, dem *Nelder-Mead Simplex*. Dabei wird der neue Punkt nicht mehr nur durch eine Spiegelung ermittelt, sondern kann auch durch ein Ausdehnen beziehungsweise Schrumpfen des Simplex bestimmt werden. Eine detaillierte Beschreibung des Algorithmus ist in [42] zu finden.

Die dritte klassische Methode der direkten Suche sind die *methods with adaptive sets of search directions*. Dabei wird versucht mit Hilfe der Krümmung des Gütefunktionalen die optimale Suchrichtung zu bestimmen. Die bekanntesten Verfahren, die dieser Klasse zugeordnet werden, stammen von Rosenbrock [56], der diese Methode als erster verwendete, Swann [63], der den Algorithmus von Rosenbrock verfeinerte und Powell [53], dessen Methode als ableitungsfreie Version der nichtlinearen konjugierten Gradienten betrachtet werden kann [44].

Methode der globalen Optimierung

Generell spricht man von einem globalen Optimierungsverfahren, wenn eine unendliche Anzahl an Schritten dazu führen würde, den kompletten Bereich sämtlicher Parameterkombinationen zu überprüfen. Die globale Optimierung ist ein bis heute ungelöstes Problem der Mathematik, da die einzige Möglichkeit das globale Extremum einer Funktion $f(\hat{p})$ zu bestimmen darin besteht, das komplette Spektrum möglicher Parameterkombinationen auszuwerten. Dieses Vorgehen ist jedoch nicht durchführbar, da dazu eine unendliche Anzahl an Funktionsauswertungen notwendig wäre. Aus diesem Grund garantiert selbst die Anwendung einer Methode der globalen Optimierung kein globales Extremum, falls nur eine endliche Anzahl an Suchschritten durchgeführt wurde.

Bekannte Verfahren sind das *Simulated Annealing*, das in verschiedenen Varianten verwendet werden kann [36], die *Interval Analysis* [37] und der *Multilevel Coordinate Search Algorithm (MCS)* [35]. Desweiteren werden auch evolutionäre Algorithmen und Neuronale Netze eingesetzt, um ein globales Extremum zu finden.

Generell lässt sich nicht sagen, welcher Algorithmus zur Lösung eines globalen Optimierungsproblems am Besten geeignet ist. Das hängt zum einen stark vom vorliegenden Optimierungsproblem ab, zum anderen müssen entsprechende technische Randbedingungen, beispielsweise der zur Verfügung stehende Speicher und die Rechenzeit, berücksichtigt werden.

Evolutionäre Algorithmen

Das Verfahren der evolutionären Algorithmen basiert auf dem Vorbild der biologischen Evolution. Ausgehend von einer zufällig generierten Startpopulation werden mit Hilfe der Evolution nachempfundener Methoden Nachkommen erzeugt. Zu den Techniken zur Erzeugung von Nachkommen zählen die Mutation, die bereits bestehende Lösungen zufällig verändert und die Rekombination, die aus zwei Lösungen eine kombinierte erstellt. Die Nachkommen werden anhand vorab definierter Zielfunktionen bewertet, wobei entsprechend dem Prinzip *Survival of the fittest* die Besten Nachkommen die größten Überlebenschancen haben. Anschließend findet eine Selektion statt, um dann wiederum eine neue Generation an Nachkommen zu erzeugen. Dadurch entwickelt sich über Generationen hinweg, ausgehend von einer zufälligen Startpopulation, eine immer bessere Lösung bis hin zu einer nahezu optimalen [20]. Für die Parameterschätzung von biologischen Modellen wurde diese Methode bereits erfolgreich angewendet [8].

4.2.3 Strukturierte Parameterschätzung

Durch die Modellierung eines biologischen Prozesses erhält man eine Modellstruktur, die den Prozessverlauf mit Hilfe eines Parametersatzes \underline{p} nachbildet. Den optimalen Parametersatz \underline{p}^o erhält man, in dem mittels eines Optimierungsalgorithmus ein vorab definiertes Gütefunktional minimiert wird. Das Argument dieses Gütefunktionals berechnet sich aus den Messwerten, die in einem realen Prozess ermittelt wurden und den berechneten Werten aus der Prozesssimulation.

Das Schätzergebnis und die zeitliche Dauer des Optimierungsprozesses hängen maßgeblich von den gewählten Anfangsbedingungen, dem Startparametersatz \underline{p}_0 , ab. Ein Startwert, der weit entfernt von der optimalen Lösung liegt, kann dazu führen, dass der Optimierungsalgorithmus nicht oder in einem lokalen Minimum konvergiert. Um diese Problematik zu umgehen, wird in [21] eine strukturierte Methode zur Parameterschätzung vorgestellt.

Dabei wird der Prozess der Parameteridentifikation in zwei Schritte unterteilt. Zu Beginn werden die vereinfachten Modellgleichungen analytisch gelöst und mit Hilfe dieser Lösung eine erste Schätzung der Modellparameter angestellt. Im zweiten Schritt erfolgt dann, ausgehend von den ermittelten Parametern, die Optimierung des kompletten Systems mit Hilfe eines der bereits vorgestellten Optimierungsverfahren.

Im Folgenden wird das Verfahren für einen allgemeinen Batchprozesses erläutert. In Abschnitt 4.3.3 wird die Methode auf den in dieser Arbeit untersuchten Fermentationsprozess angewendet.

1. Schritt der Parameterschätzung: Bestimmung geeigneter Anfangswerte der Optimierung [21]

Eine erste Abschätzung der Wachstums-, Aufnahme-, und Verbrauchsrate ergibt sich, in dem man das dynamische System

$$\dot{c}_X = \mu c_X \quad (4.23)$$

$$\dot{\underline{c}} = \underline{\nu} c_X \quad (4.24)$$

analytisch löst. Dabei handelt es sich um einen kontinuierlichen biologischen Prozess mit den Substrat- und Produktkonzentrationen \underline{c} und der Zellkonzentration c_X . Geht man davon aus, dass im betrachteten Zeitintervall $[t_0, t_1]$ zwischen zwei Messungen die Wachstums-, Aufnahme- und Verbrauchsrate μ und $\underline{\nu}$ nicht von der Zeit abhängen, ergibt sich die allgemeine Lösung der Gleichungen 4.23 und 4.24 zu

$$\mu = \frac{\ln c_{X,1} - \ln c_{X,0}}{t_1 - t_0} \quad (4.25)$$

$$\underline{\nu} = \frac{\underline{c}_1 - \underline{c}_0}{(c_{X,1} - c_{X,0})} \cdot \mu. \quad (4.26)$$

Stehen für N Zeitintervalle $[t_i, t_{i+1}]$ entsprechende Sätze von Messwerten zur Verfügung, so lassen sich die durchschnittlichen Wachstums-, Verbrauchs- und Produktionsraten für jedes Zeitintervall entsprechend der Gleichungen 4.25 und 4.26 näherungsweise berechnen. Für das i -te Zeitintervall $[t_i, t_{i+1}]$ ergibt sich somit

$$\mu_i = \frac{\ln c_{X,i+1} - \ln c_{X,i}}{t_{i+1} - t_i} \quad (4.27)$$

$$\underline{\nu}_i = \frac{\underline{c}_{i+1} - \underline{c}_i}{c_{X,i+1} - c_{X,i}} \cdot \mu_i. \quad (4.28)$$

Die ermittelten Wachstums-, Verbrauchs- und Produktionsraten dienen im weiteren Verlauf dazu, die kinetischen Parameter des Modells approximativ zu bestimmen. Die individuellen Verbrauchs- und Produktionsraten μ und $\underline{\nu}$ der einzelnen Komponenten werden im Vektor \underline{q} zusammengefasst,

$$\underline{q} = \begin{bmatrix} \mu \\ \underline{\nu} \end{bmatrix}, \quad (4.29)$$

und können in einer ersten Approximation über die Gleichungen 4.25 und 4.26 berechnet werden.

Geht man, wie in Abschnitt 4.1.1, davon aus, dass der Wachstumsprozess von einer bestimmenden Reaktionsrate r_v gesteuert wird, ergibt sich mit Hilfe des Vektors der Ausbeutekoeffizienten \underline{Y} ein Zusammenhang zwischen der Reaktionsrate einerseits und den Wachstums-, Verbrauchs- und Produktionsraten andererseits,

$$\underline{q} \cdot c_X = \underline{Y} \cdot r_v. \quad (4.30)$$

Die Elemente des Vektors \underline{q} können, wie bereits erwähnt, für jedes Zeitintervall analytisch ermittelt werden, wohingegen die Reaktionsrate bisher noch unbekannt ist. Da ein Gleichungssystem nur dann eindeutig gelöst werden kann, wenn die Anzahl der zu bestimmenden Parameter gleich der Anzahl der im Gleichungssystem vorhandenen Gleichungen ist, ergibt sich als notwendige Bedingung, dass die Anzahl an Reaktionen im Reaktionsschema geringer sein muss als die Anzahl der betrachteten Komponenten. Des Weiteren lässt sich der Vektor der Ausbeutekoeffizienten in einer Weise konstruieren, dass sich die Anzahl der unbekannten Ausbeutefaktoren reduziert,

$$\underline{Y} = \begin{bmatrix} 1 \\ \underline{Y}^* \end{bmatrix} . \quad (4.31)$$

Das bedeutet, dass die Biomasse als Referenzkomponente gebildet wird. Die entsprechenden Ausbeutefaktoren \underline{Y}^* beziehen sich also auf den Verbrauch beziehungsweise die Produktion der jeweiligen Komponenten bei der Bildung einer Einheit Biomasse. Eine erste Abschätzung der Werte der Ausbeutekoeffizienten und der Reaktionsraten im jeweiligen Zeitintervall erhält man durch die Minimierung eines Weighted-Least-Squares Gütefunktional

$$J = \sum_{i=0}^{N-1} \left(\underline{q}_i \cdot \bar{c}_{X,i} - \underline{Y} r_{v,i} \right)^T \mathbf{W} \left(\underline{q}_i \cdot \bar{c}_{X,i} - \underline{Y} r_{v,i} \right) \quad (4.32)$$

$$\left[\hat{\underline{Y}}, \hat{r}_v \right] = \arg \min_{\underline{Y}, r_{v,i}=0, N-1} J . \quad (4.33)$$

Für diese Abschätzung muss die Konzentration der Zellen, der Substrate und Produkte im Medium bekannt sein. Dazu wird für jedes Zeitintervall die mittlere Konzentration als Mittelwert der Werte aus zwei aufeinanderfolgenden Messpunkten berechnet,

$$\bar{c}_{X,i} = \frac{c_{X,i+1} + c_{X,i}}{2} \quad (4.34)$$

$$\bar{c}_i = \frac{c_{i+1} + c_i}{2}. \quad (4.35)$$

Die näherungsweise Bestimmung der verschiedenen Reaktionsraten, $\hat{r}_{v,i}$, in den einzelnen Zeitintervallen $[t_i, t_{i+1}]$ führt im weiteren Verlauf zu einer direkten Abschätzung der die Reaktionsraten bestimmenden kinetischen Parameter \underline{p} .

Die Reaktionsgeschwindigkeit hängt, wie in Abschnitt 4.1.2 erläutert, von den Konzentrationen der verschiedenen Komponenten und den kinetischen Parametern ab, $r = r(c_X, \underline{c}, \underline{p})$. Die Menge der kinetischen Parameter und die Art und Weise wie diese die Reaktionsgeschwindigkeit beeinflussen unterscheidet sich dabei je nach verwendetem Modellierungsansatz. Da es sich in diesem Abschnitt um eine allgemeine Herleitung handelt, wird der kinetische Parametersatz als abstrakter Parametervektor behandelt. Damit lässt sich eine erste Approximation der kinetischen Parameter durch die Minimierung des Gütefunktional

$$\begin{aligned} J &= \sum_{i=0}^{N-1} \left(\hat{r}_{v,i} - r_v(\underline{\bar{c}}_i, \underline{\bar{c}}_{X,i}, \underline{p}) \right)^T S \left(\hat{r}_{v,i} - r_v(\underline{\bar{c}}_i, \underline{\bar{c}}_{X,i}, \underline{p}) \right) \\ [\hat{\underline{p}}] &= \arg \min_{\underline{p}} J \quad . \end{aligned} \quad (4.36)$$

bestimmen.

Mit den Ergebnissen der beiden Optimierungsschritte der Gleichungen 4.33 und 4.36 steht eine erste Näherung der Ausbeutekoeffizienten $\hat{\underline{Y}}$ und der kinetischen Parameter $\hat{\underline{p}}$ zur Verfügung. Diese Näherung kann in einem nächsten Schritt verbessert werden. Dazu wird das Gütefunktional aus Gleichung 4.33 nicht mehr bezüglich der Reaktionsraten, sondern direkt bezogen auf die die Reaktionsraten bestimmenden kinetischen Parameter ausgewertet,

$$\begin{aligned} J &= \sum_{i=0}^{N-1} \left(\underline{q}_i \cdot \underline{\bar{c}}_{X,i} - \underline{Y} r_v(\underline{\bar{c}}_i, \underline{\bar{c}}_{X,i}, \underline{p}) \right)^T \mathbf{W} \\ &\quad \left(\underline{q} \cdot \underline{\bar{c}}_{X,i} - \underline{Y} r_v(\underline{\bar{c}}_i, \underline{\bar{c}}_{X,i}, \underline{p}) \right) \\ [\hat{\underline{Y}}, \hat{\underline{p}}] &= \arg \min_{\underline{Y}, \underline{p}} J \quad . \end{aligned} \quad (4.37)$$

Vollständige Parameteridentifikation

Die in den vorigen Optimierungsschritten berechneten Parameter werden im abschließenden Schritt der Parameterschätzung als Startwerte der Optimierung des kompletten, nichtlinearen Systems verwendet. Dazu wird das Differentialgleichungssystem

$$\begin{bmatrix} \dot{c}_X \\ \dot{\underline{c}} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 \\ \underline{Y}^* \end{bmatrix} \cdot r_v(c_X, \underline{c}, \underline{p}) \quad (4.38)$$

mit den Anfangswerten

$$\begin{bmatrix} c_X(t_0) \\ \underline{c}(t_0) \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} c_{X,0} \\ \underline{c}_0 \end{bmatrix} \quad (4.39)$$

simuliert und die Simulationsergebnisse der Medienkomponenten $\underline{c}_{sim}(\underline{Y}, \underline{p})$ bzw. der Biomasse $c_{X,sim}(\underline{Y}, \underline{p})$ zu den Messzeitpunkten t_i mit den realen Messwerten verglichen. Das finale zu minimierende Gütefunktional ergibt sich somit zu

$$J = \sum_{i=0}^{N-1} \left(\begin{bmatrix} c_{X,i} \\ \underline{c}_i \end{bmatrix} - \begin{bmatrix} c_{X,sim,i}(\underline{Y}, \underline{p}) \\ \underline{c}_{sim,i}(\underline{Y}, \underline{p}) \end{bmatrix} \right)^T \mathbf{W} \begin{bmatrix} c_{X,i} \\ \underline{c}_i \end{bmatrix} - \begin{bmatrix} c_{X,sim,i}(\underline{Y}, \underline{p}) \\ \underline{c}_{sim,i}(\underline{Y}, \underline{p}) \end{bmatrix} \quad (4.40)$$

$$[\underline{Y}, \underline{p}] = \arg \min_{\underline{Y}, \underline{p}} J \quad .$$

Als Resultat dieser Optimierung erhält man zum einen einen Satz von Ausbeutekoeffizienten, die besagen, wieviel Substrat respektive Produkt an der Bildung von einer Einheit Biomasse beteiligt ist. Zum anderen ergibt sich ein charakteristischer Parametersatz, der die Modellkinetik bestimmt. Dieses Ergebnis beschreibt die vorgegebene Modellstruktur hinreichend genau, um den Prozessverlauf simulativ nachbilden zu können. Schematisch ist der komplette Ablauf der Parameteridentifikation in Abb. 4.4 illustriert.

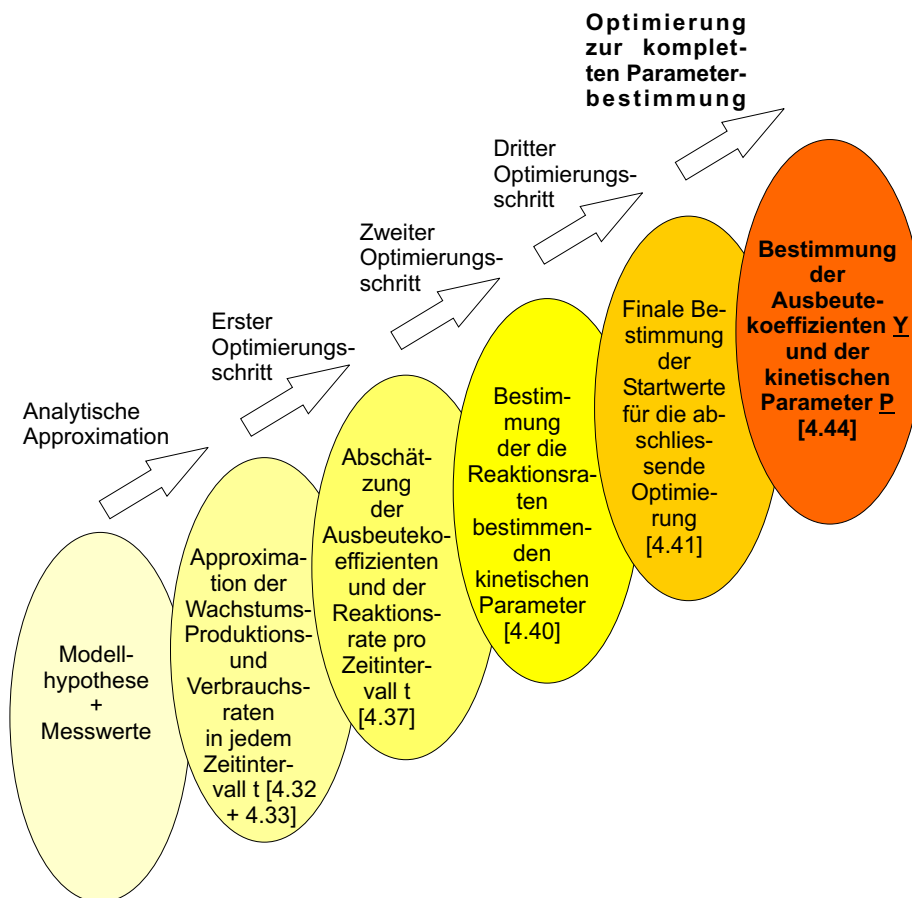


Abb. 4.4: Schematische Darstellung der strukturierten Parameterschätzung.

4.3 Modellierung des Batchprozesses der Fermentation des Bakteriums *Streptococcus thermophilus*

4.3.1 Makroskopisches Reaktionsschema zur Kultivierung des Bakteriums *Streptococcus thermophilus*

Die in den vorigen Abschnitten für den allgemeinen Fall beschriebene Methodik zur Modellierung biologischer Prozesse wird nun speziell auf den Fermentationsprozess des Bakteriums *Streptococcus thermophilus* angewendet. Dabei geht man von einem einfachen Blackboxmodell aus, welches nur den Verbrauch des Substrats Laktose S sowie die Bildung der Biomasse X und die Produktion von Laktat P berücksichtigt (vgl. Abb. 4.5).

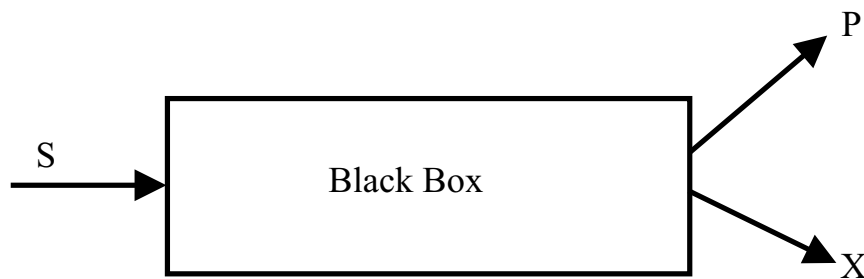
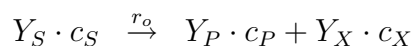


Abb. 4.5: Blackboxmodell eines biologischen Prozesses.

Als Ausgangspunkt dient der in Kapitel 3 beschriebene Metabolismus, bei dem sich die Laktose in die Metaboliten Galaktose und Glukose, die dann in Laktose umgewandelt wird, aufspaltet. Wie bereits in Abschnitt 4.1.1 hergeleitet, spielen für das makroskopische Reaktionsschema und damit das Blackboxmodell des Prozesses die intrazellulären Metaboliten keine Rolle. Dadurch lässt sich das Reaktionsschema dieses Vorganges als



angeben. Dabei steht das Substrat S für die Laktose und das Produkt P für das produzierte Laktat. Die Reaktionsgeschwindigkeit, mit der die Biomassenproduktion von statten geht, ist durch die Gesamtreaktionsgeschwindigkeit r_o bestimmt. Die einzelnen Differentialgleichungen für die jeweiligen Konzentrationen c_i der betrachteten

Komponenten $i = X, S, P$ ergeben sich damit zu

$$\frac{dc_X}{dt} = Y_X \cdot r_o \quad (4.41)$$

$$\frac{dc_S}{dt} = -Y_S^* \cdot r_o \quad (4.42)$$

$$\frac{dc_P}{dt} = Y_P^* \cdot r_o \quad (4.43)$$

Die Ausbeutekoeffizienten werden bezogen auf die produzierte Biomasse normiert, das bedeutet $Y_X = 1$. Pro produzierter Einheit Biomasse werden Y_S^* [g/CFU] Laktose verbraucht und Y_P^* [g/CFU] Laktat gebildet. Für das Differentialgleichungssystem des makroskopischen Modells ergibt sich

$$\frac{d}{dt} \begin{bmatrix} c_X \\ c_S \\ c_P \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 \\ -Y_S^* \\ Y_P^* \end{bmatrix} \cdot r_o \quad (4.44)$$

Das Modell lässt sich somit über die Reaktionsgeschwindigkeit und zwei Ausbeutekoeffizienten vollständig beschreiben.

4.3.2 Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeit r_o

Um die Reaktionsgeschwindigkeit des Prozesses zu bestimmen, wird die in Abschnitt 4.1.2 vorgestellte Wachstumskinetik von Monod [46] verwendet. Man erhält die Reaktionsgeschwindigkeit in Abhängigkeit des Substrats Laktose und des Produkts Laktat. Die Reaktionsgeschwindigkeit errechnet sich aus dem Produkt der maximalen Wachstumsgeschwindigkeit μ_{max} sowie je einem Limitierungs- und Inhibierungsterm, welche jeweils von der Konzentration des Substrats, beziehungsweise des Produkts abhängen.

Die prozessspezifische Wachstumsgeschwindigkeit ergibt sich somit zu

$$\mu(c_S, c_P) = \mu_{max} \cdot \frac{c_S}{K_S + c_S} \cdot \frac{K_P}{K_P + c_P} \quad (4.45)$$

Dabei entsprechen c_S und c_P den Konzentrationen von Laktose (S) und Laktat (P). Das vollständige Modell lässt sich dann in Zustandsraumdarstellung schreiben

$$\frac{d}{dt} \begin{bmatrix} c_X \\ c_S \\ c_P \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 \\ -Y_S^* \\ Y_P^* \end{bmatrix} \mu_{max} \cdot \frac{c_S}{K_S + c_S} \cdot \frac{K_P}{K_P + c_P} \cdot c_X \quad (4.46)$$

Dieses einfache, unstrukturierte Modell wird durch einen Parametersatz \underline{p}

$$\underline{p} = [Y_S^*, Y_P^*, K_S, K_P, \mu_{max}]^T \quad (4.47)$$

charakterisiert. Die das Modell determinierenden Parameter können mit Hilfe von vorhandenen Versuchsdaten mathematisch bestimmt werden, so dass sich ein spezifiziertes Modell ergibt. Dieses ist in der Lage, den betrachteten Wachstumsprozess zu beschreiben.

4.3.3 Bestimmung des charakteristischen Parametersatzes

Nachdem in den vorigen Abschnitten die Grundlagen für eine mathematische Beschreibung der Fermentation des Bakteriums *Streptococcus thermophilus* gelegt worden sind, soll mit Hilfe der in Abschnitt 4.2 vorgestellten Methode der charakteristische Parametersatz bestimmt werden, der das mathematische Modell auf die Messdaten abbildet.

Dazu wird zu Beginn des Schätzverfahrens für jede auftretende Komponente, die Keimzahl X , das Produkt Laktat P und das Substrat Laktose S , die zugehörige individuelle Wachstums-, Produktions- und Verbrauchsrate im jeweiligen Zeitpunkt t_i berechnet. Jeder der N zur Verfügung stehenden Versuchsdatensätze wird in gleiche Zeitintervalle eingeteilt. Anschließend werden für jeden Versuch separat die entsprechenden Wachstums-, Produktions- und Verbrauchsrate in den Zeitintervallen berechnet. Diese Approximation erfolgt gemäß den Gleichungen 4.25 und 4.26. Im Anschluss wird das arithmetische Mittel der Wachstums-, Produktions- und Verbrauchsrate aus den einzelnen Versuchen gebildet. Dadurch können die durchschnittlichen Raten innerhalb eines Zeitschritts bestimmt werden. Für die entsprechenden Wachstums-, Produktions- und Verbrauchsrate im Zeitintervall $[t_i, t_{i+1}]$ ergibt sich dann

$$\bar{\mu}_i = \frac{1}{M} \sum_{j=1}^M \frac{\ln c_{X,i+1,j} - \ln c_{X,i,j}}{t_{i+1} - t_i} \quad (4.48)$$

$$\underline{\bar{\nu}}_i = \frac{1}{M} \sum_{j=1}^M \frac{\underline{c}_{i+1,j} - \underline{c}_{i,j}}{c_{X,i+1,j} - c_{X,i,j}} \cdot \bar{\mu}_i, \quad (4.49)$$

wobei M die Anzahl an Datensätzen angibt, die für die Bestimmung der Parameter herangezogen werden. Der Vektor $\underline{c}_{i,j} = [c_{S,i,j} \quad c_{P,i,j}]^T$ enthält dabei die Substrat- und Produktkonzentrationen des j -ten Versuchs im Zeitintervall $[t_i, t_{i+1}]$. Der Vektor $\underline{\nu}_i = [\nu_{S,i} \quad \nu_{P,i}]^T$ enthält die zugehörige Verbrauchs- beziehungsweise Produktionsrate.

Die über alle Versuche gemittelte Konzentration der entsprechende Medienkomponente c_k $k = X, S, P$ zum Zeitpunkt t_i berechnet sich analog

$$\bar{c}_{k,i} = \frac{1}{M} \sum_{j=1}^M c_{k,i,j}. \quad (4.50)$$

Mit Hilfe dieser approximierten Wachstums-, Produktions- und Verbrauchsrate kann das exponentielle Wachstum der drei Zustandsgrößen im Zeitintervall $[t_i, t_{i+1}]$ durch die diskreten Gleichungen

$$c_{X,i+1} = c_{X,i} \cdot e^{\bar{\mu}_i \cdot (t_{i+1} - t_i)} \quad (4.51)$$

$$c_{S,i+1} = c_{S,i} \cdot e^{\bar{\nu}_{S,i} \cdot (t_{i+1} - t_i)} \quad (4.52)$$

$$c_{P,i+1} = c_{P,i} \cdot e^{\bar{\nu}_{P,i} \cdot (t_{i+1} - t_i)} \quad (4.53)$$

näherungsweise beschrieben werden.

In Abbildung 4.6 werden die über die Gleichungen 4.51- 4.53 berechneten Größen, mit experimentell ermittelten Messwerten einer Batchfermentation verglichen. Offensichtlich geben die auf einer näherungsweisen Bestimmung der einzelnen Verbrauchs- Produktions- und Wachstumsraten basierenden Simulationsergebnisse den realen Prozessverlauf gut wieder.

Im nächsten Schätzschritt wird eine erste Bestimmung der Ausbeutekoeffizienten des Substrats und des Produkts vorgenommen. Dies geschieht in Anlehnung an Gleichung 4.33. Im Gegensatz zu Gleichung 4.33 werden jetzt ausschließlich die Ausbeutekoeffizienten von Substrat und Produkt bestimmt. Dies ist möglich, da sich die Verbrauchs- beziehungsweise Produktionsrate als Produkt des spezifischen Ausbeutekoeffizienten und der Wachstumsrate der Biomasse darstellen lassen,

$$\begin{aligned} \begin{bmatrix} \bar{\mu}_i \\ \bar{\nu}_{S,i} \\ \bar{\nu}_{P,i} \end{bmatrix} &= \begin{bmatrix} 1 \\ -Y_S \\ Y_P \end{bmatrix} \cdot \bar{\mu}_i \\ &\text{mit} \\ \underline{\bar{q}}_i &= \begin{bmatrix} \bar{\mu}_i \\ \bar{\nu}_{S,i} \\ \bar{\nu}_{P,i} \end{bmatrix} \\ &\text{und} \\ \underline{Y} &= \begin{bmatrix} 1 \\ -Y_S \\ Y_P \end{bmatrix}. \end{aligned} \quad (4.54)$$

Das Optimierungskriterium lautet dann

$$J = \sum_{i=0}^{N-1} \left(\bar{q}_i - \underline{Y} \cdot \bar{\mu}_i \right)^T \mathbf{W} \left(\bar{q}_i - \underline{Y} \cdot \bar{\mu}_i \right) \quad (4.55)$$

$$\left[\hat{\underline{Y}} \right] = \arg \min_{\underline{Y}} J \quad .$$

Der Vergleich der im Vektor \bar{q}_i zusammengefassten approximierten Wachstums-, Produktions- und Verbrauchsdaten und dem Produkt aus Ausbeutekoeffizient $\hat{\underline{Y}}$ und Wachstumsrate der Biomasse $\bar{\mu}_i$ ist in Abb. 4.7 dargestellt.

Die erzielten Resultate zeigen bereits eine gute Übereinstimmung zwischen den analytisch bestimmten Werten $\bar{\nu}_i$ und den errechneten Werten $Y_i \cdot \bar{\mu}_i$; $i = S, P$.

Im Anschluss an die erste Schätzung der Ausbeutekoeffizienten erfolgt gemäß dem in Gleichung 4.36 angegebenen Kriterium die Bestimmung der kinetischen Parameter, welche die Reaktionsgeschwindigkeit charakterisieren. Aufgrund des Zusammenhangs $r_o = \mu(\underline{c}, \underline{p}) \cdot c_X$ zwischen Reaktionsgeschwindigkeit und Wachstumsrate der Biomasse, wobei $\underline{c} = [c_S \quad c_P]^T$ gilt, kann ein reduziertes Optimierungskriterium angegeben werden. Es ergibt sich somit

$$J = \sum_{i=0}^{N-1} \left(\bar{\mu}_i - \mu(\bar{\underline{c}}_i, \underline{p}) \right)^T S \left(\bar{\mu}_i - \mu(\bar{\underline{c}}_i, \underline{p}) \right) \quad (4.56)$$

$$\left[\hat{\underline{p}} \right] = \arg \min_{\underline{p}} J \quad .$$

Die Resultate der letzten beiden Optimierungsschritte, $\hat{\underline{Y}}$ und $\hat{\underline{p}}$, dienen als Startwerte des nächsten Schätzschrittes, bei dem sowohl die Ausbeutekoeffizienten \underline{Y} als auch die kinetischen Parameter \underline{p} als Zielwert im Gütefunktional enthalten sind. In Anlehnung an Gleichung 4.37 ergibt sich das Gütefunktional

$$J = \sum_{i=0}^{N-1} \left(\bar{q}_i - \underline{Y} \mu(\bar{\underline{c}}_i, \underline{p}) \right)^T \mathbf{W} \left(\bar{q}_i - \underline{Y} \mu(\bar{\underline{c}}_i, \underline{p}) \right) \quad (4.57)$$

$$\left[\hat{\underline{Y}}, \hat{\underline{p}} \right] = \arg \min_{\underline{Y}, \underline{p}} J \quad .$$

Durch die Minimierung des Funktional aus Gleichung 4.58 wurde die Näherungslösung für die kinetischen Parameter und die Ausbeutekoeffizienten weiter angepasst. Diese Lösung dient im abschließenden Optimierungsschritt als Startwert. Dabei wird mit Hilfe einer kompletten Prozesssimulation der charakteristische Parametersatz weiter verbessert.

Der Prozess wird mit einem vollständigen Parametersatz, bestehend aus Ausbeutekoeffizienten und kinetischen Parametern, simuliert. Anschließend wird die Differenz zwischen den simulierten Werten und den Messwerten von drei unterschiedlichen Versuchen gebildet. Die Differenz dient dann als Argument des zu minimierenden Kostenfunktional. Der aus dieser Optimierung resultierende Parametersatz ist in Tab. 4.1 dargestellt. Die Vorgehensweise zur Bestimmung der charakteristischen Parameter ist in den Tabellen 4.2 und 4.3 noch einmal zusammengefasst.

Parametersatz des Batchmodells		
Y_S	$4.947 \cdot 10^{-9}$	(g/CFU)
Y_P	$1.887 \cdot 10^{-9}$	(g/CFU)
K_S	1.7411	(g/l)
K_P	14.989	(g/l)
μ_{max}	1.8584	$(1/h)$

Tab. 4.1: Parametersatz des Prozessmodells für eine Batchfermentation des Bakteriums *Streptococcus thermophilus*.

Die auf Basis dieses Parametersatzes und des Modells aus Gleichung 4.46 erstellte Simulation wird in Abb. 4.8 mit den Messwerten von drei Batchversuchen verglichen. Es gelingt mit dem identifizierten Parametersatz den Prozessverlauf der Fermentation nachzubilden. Besonders der Verlauf der Biomasse stimmt bei sämtlichen Versuchen mit den simulierten Werten überein. Bei der Schätzung des Substrats Laktose kommt es zu geringen Abweichungen, wobei diese teilweise auf die unterschiedlichen Anfangsbedingungen zurückzuführen sind. Die Werte des Produkts Laktat zeigen hingegen eine Übereinstimmung mit den gemessenen Werten.

Durch die Identifikation des modellspezifischen Parametersatzes \underline{p} steht ein Prozessmodell für die Batchfermentation des Bakteriums *Streptococcus thermophilus* zur Verfügung, welches im weiteren Verlauf als Basis für eine modellgestützte Prozessführung der Kultivierung dieses Bakterienstammes dient.

<p>1. Bestimmung der Wachstums-, Produktions- und Verbrauchsdaten für jeden Versuch</p> $\mu_i = \frac{\ln c_{X,i+1} - \ln c_{X,i}}{t_{i+1} - t_i}$ $\underline{\nu}_i = \frac{c_{i+1} - c_i}{c_{X,i+1} - c_{X,i}} \cdot \mu_i; \quad \underline{c} = [c_S \quad c_P]^T \quad \underline{\nu} = [\nu_S \quad \nu_P]^T$
<p>2. Mittelwertbildung über M Versuche</p> $\bar{\mu}_i = \frac{1}{M} \sum_{j=1}^M \mu_{i,j}$ $\bar{\nu}_i = \frac{1}{M} \sum_{j=1}^M \nu_{i,j}$ $\bar{c}_{k,i} = \frac{1}{M} \sum_{j=1}^M c_{k,i,j}; \quad k = X, S, P$
<p>3. Bestimmung der Ausbeutekoeffizienten</p> $J = \sum_{i=0}^{N-1} \left(\begin{bmatrix} \bar{\mu}_i \\ \bar{\nu}_i \end{bmatrix} - \underline{Y} \cdot \bar{\mu}_i \right)^T \mathbf{W} \left(\begin{bmatrix} \bar{\mu}_i \\ \bar{\nu}_i \end{bmatrix} - \underline{Y} \cdot \bar{\mu}_i \right)$ $[\hat{\underline{Y}}] = \arg \min_{\underline{Y}} J$
<p>4. Bestimmung der kinetischen Parameter</p> $J = \sum_{i=0}^{N-1} (\bar{\mu}_i - \mu(\bar{c}_i, \underline{p}))^T S (\bar{\mu}_i - \mu(\bar{c}_i, \underline{p}))$ $[\hat{\underline{p}}] = \arg \min_{\underline{p}} J$

Tab. 4.2: Schematische Darstellung der Vorgehensweise zur Schätzung der charakteristischen Parameter des Prozessmodells, Schritte 1-4.

5. Bestimmung der Ausbeutekoeffizienten und der kinetischen Parameter

$$J = \sum_{i=0}^{N-1} \left(\begin{bmatrix} \bar{\mu}_i \\ \bar{\underline{v}}_i \end{bmatrix} - \underline{Y}\mu(\bar{\underline{c}}_i, \underline{p}) \right)^T \mathbf{W} \left(\begin{bmatrix} \bar{\mu}_i \\ \bar{\underline{v}}_i \end{bmatrix} - \underline{Y}\mu(\bar{\underline{c}}_i, \underline{p}) \right)$$

$$[\hat{\underline{Y}}, \hat{\underline{p}}] = \arg \min_{\underline{Y}, \underline{p}} J$$

6. Abschließende Parameteroptimierung über alle M Versuche

$$J = \sum_{j=1}^M \sum_{i=0}^{N-1} \left(\begin{bmatrix} c_{X,i,j} \\ \underline{c}_{i,j} \end{bmatrix} - \begin{bmatrix} c_{X,sim,i}(\underline{Y}, \underline{p}) \\ \underline{c}_{sim,i}(\underline{Y}, \underline{p}) \end{bmatrix} \right)^T \mathbf{W} \left(\begin{bmatrix} c_{X,i,j} \\ \underline{c}_{i,j} \end{bmatrix} - \begin{bmatrix} c_{X,sim,i}(\underline{Y}, \underline{p}) \\ \underline{c}_{sim,i}(\underline{Y}, \underline{p}) \end{bmatrix} \right)$$

$$\underline{c} = [c_S \quad c_P]^T$$

$$[\hat{\underline{Y}}, \hat{\underline{p}}] = \arg \min_{\underline{Y}, \underline{p}} J$$

Tab. 4.3: Schematische Darstellung der Vorgehensweise zur Schätzung der charakteristischen Parameter des Prozessmodells, Schritte 5 und 6.

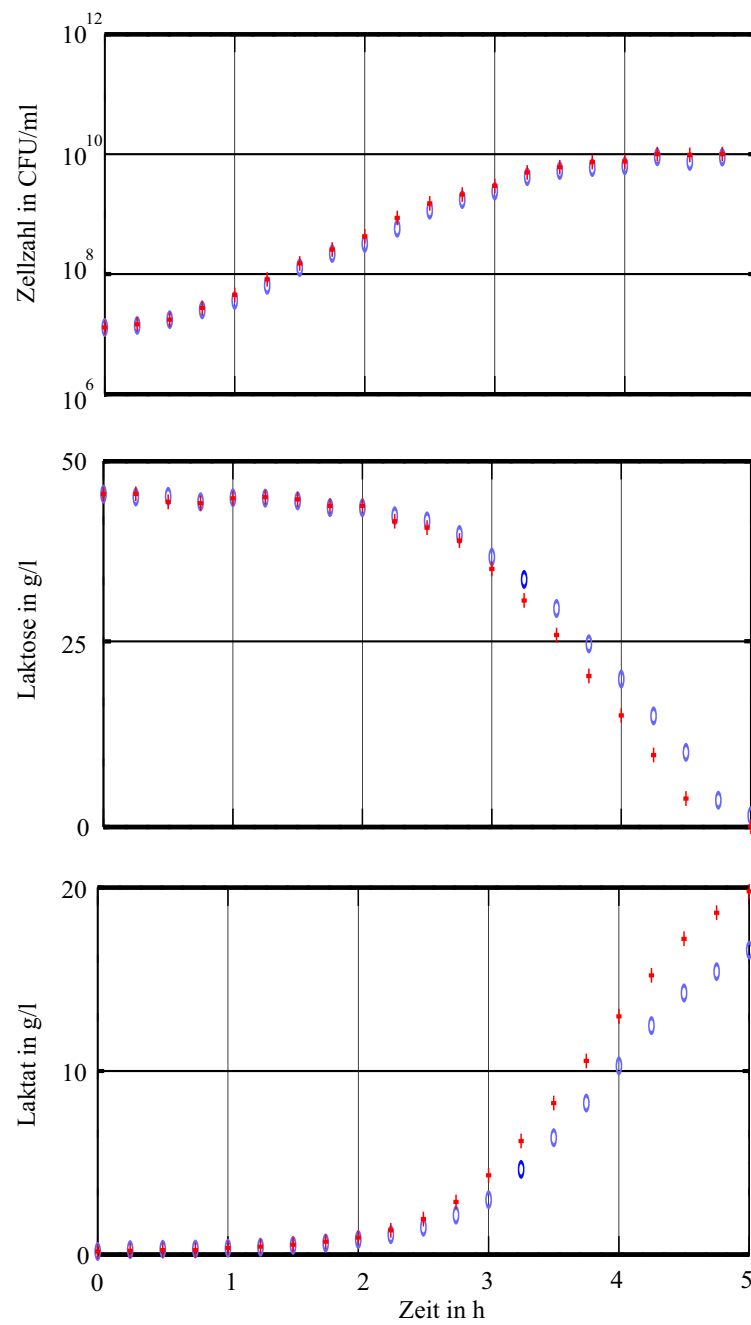


Abb. 4.6: Messwerte eines Batchversuchs sowie Simulationsergebnisse basierend auf den Gln. 4.51 -4.53. Die Simulationsergebnisse basieren auf näherungsweise bestimmten Wachstumsraten der einzelnen Komponenten; \circ Messungen; $+$ Approximation.

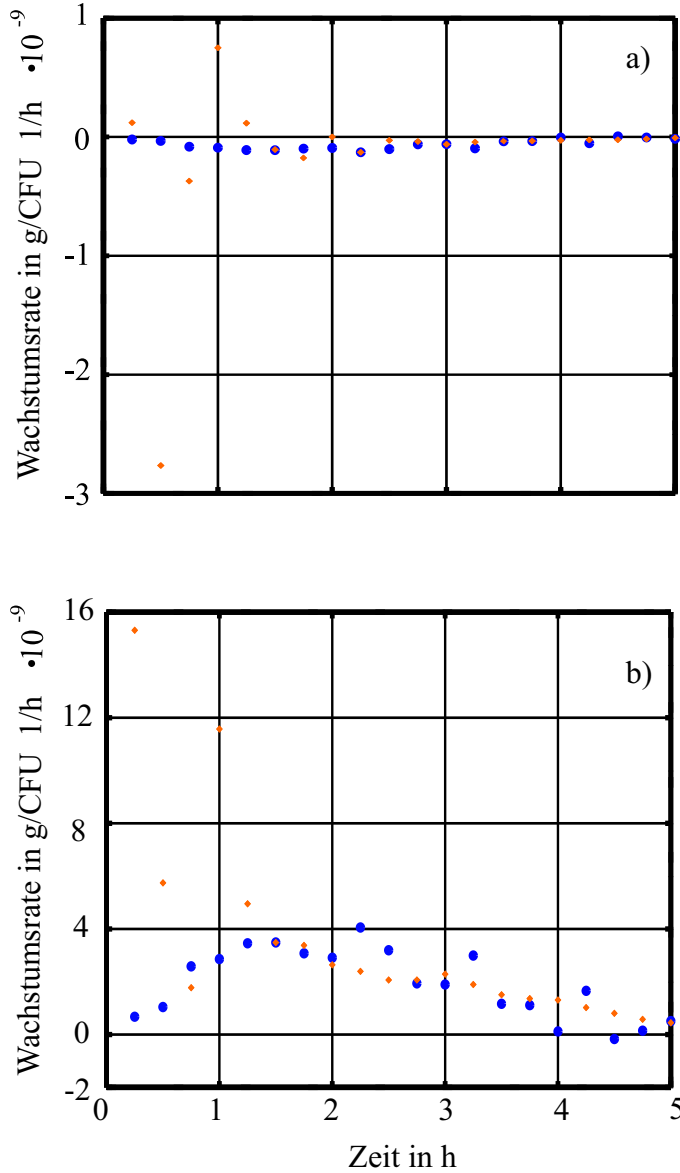


Abb. 4.7: Vergleich der näherungsweise gemäß Gln. 4.48 und 4.49 berechneten Verbrauchs- bzw. Produktionsraten $\bar{v}_i, i = S, P$ und der über die Beziehung $\hat{Y}_i \cdot \bar{\mu}_X, i = S, P$ gemäß Gl. 4.54 berechneten Raten für das Substrat Laktose (a) und das Produkt Laktat (b);
 ◐: approximierte Werte $\bar{v}_i, i = S, P$ aus Gl. 4.49,
 ◇: über die Beziehung $\hat{Y}_i \cdot \bar{\mu}_X, i = S, P$ berechnete Werte.

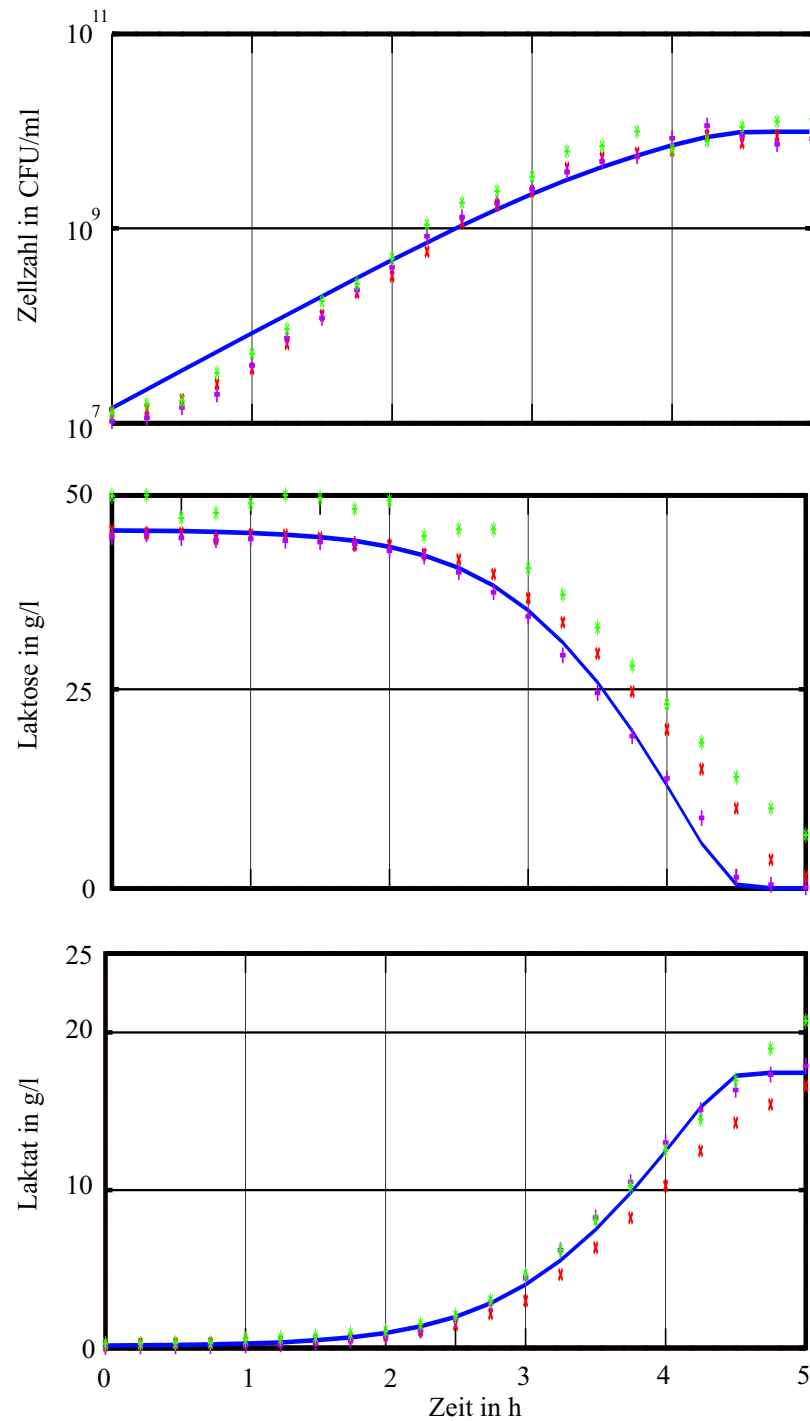


Abb. 4.8: Vergleich der simulierten Werte der Biomasse, der Laktose und des Laktats mit den Messwerten eines realen Prozesses;

x: Batch 1, +: Batch 2, *: Batch 3, -: Simulation .

Kapitel 5

Zustandsschätzung

5.1 Zustandsschätzung zur Bestimmung nicht online messbarer Prozessgrößen

Der Verlauf eines biologischen Prozesses stimmt mit dem vorab modellierten Prozessverlauf auf Grund von Prozessstörungen und Modellunsicherheiten nicht vollständig überein. Aus diesem Grund seien die exakten Werte der Zustandgrößen nun durch die Differentialgleichung

$$\dot{\underline{x}} = \underline{f}(\underline{x}, \underline{u}) \quad (5.1)$$

gegeben, wobei \underline{u} die Eingangsgröße, beispielsweise die Substratzufuhr darstellt. Die modellierten Zustände und das Messmodell sind durch

$$\dot{\hat{\underline{x}}} = \underline{f}(\hat{\underline{x}}, \underline{u}) + \hat{\underline{w}}(t) \quad (5.2)$$

$$\hat{\underline{y}} = \underline{h}(\hat{\underline{x}}) + \hat{\underline{v}}(t) \quad (5.3)$$

gegeben, wobei der Fehlervektor $\hat{\underline{w}}$ interne Prozessstörungen und Modellunsicherheiten berücksichtigt und $\hat{\underline{v}}$ auftretende Messfehler beschreibt.

Bei Fermentationsprozessen können viele Prozessgrößen nicht oder nur mit einer entsprechenden zeitlichen Verzögerung online gemessen werden. Da diese Größen jedoch oftmals von entscheidender Bedeutung für den Prozessverlauf sind, ist es wichtig, die internen Zustandgrößen des Prozesses über den kompletten Fermentationsverlauf hinweg beobachten zu können. Dies geschieht, indem man, ausgehend von online verfügbaren Messdaten, die internen Zustände mit Hilfe sogenannter Beobachterverfahren rekonstruiert. Dieses Vorgehen ist schematisch in Abb. 5.1 dargestellt.

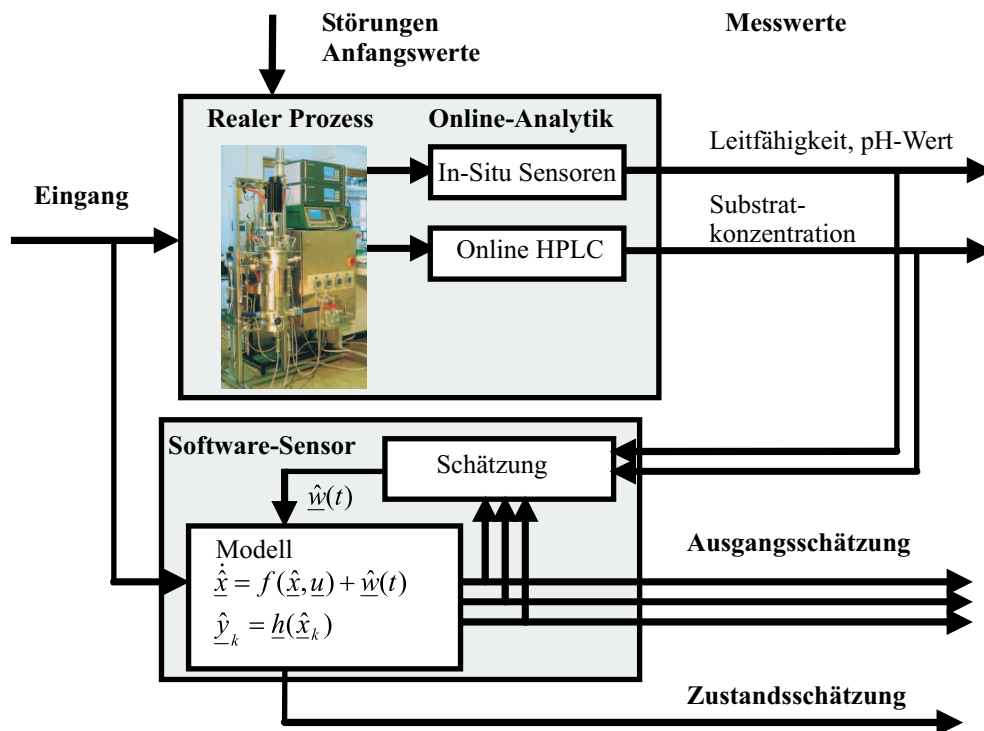


Abb. 5.1: Schematische Darstellung eines Zustandsschätzers.

Das dem Prozess parallel geschaltete Modell kann ein mathematisches Modell sein, wie es in Abschnitt 4.1 aufgestellt wurde. Aber auch ein entsprechend trainiertes Neuronales Netz kann zu diesem Zweck verwendet werden.

Da die auftretenden Unsicherheiten im Prozess durch eine einfache Parallelschaltung zwischen Prozess und Prozessmodell nicht beseitigt werden können, müssen die beiden Elemente gekoppelt werden. Dies geschieht, indem direkt messbare Prozesszustände dem Modell zugeführt werden, um die auftretenden Abweichungen zwischen gemessenen und geschätzten Werten zu verringern, Messfehler auszugleichen und gleichzeitig nicht messbare Zustandsgrößen nachzubilden. Die Rekonstruktion der nicht messbaren Zustandsgrößen ist jedoch nur dann möglich, wenn die Messgrößen ausreichende Informationen bieten, um aus dem zeitlichen Verlauf eindeutig auf den tatsächlichen Verlauf der gesuchten Zustandsgröße zu schließen. Sind die genannten Voraussetzungen erfüllt, ist das System vollständig beobachtbar.

5.2 Beobachtbarkeit

Um die Beobachtbarkeit eines Systems zu untersuchen, muss das komplette System (5.4) betrachtet werden.

$$\begin{aligned}\dot{\underline{x}} &= \underline{f}(\underline{x}(t), \underline{u}(t)) & t \geq 0 & \quad \underline{x}(0) = \underline{x}_0 \\ \underline{y} &= \underline{h}(\underline{x}(t)) & t \geq 0\end{aligned}\tag{5.4}$$

Definition: Ein System (5.4) heißt vollständig beobachtbar, wenn der Anfangszustand \underline{x}_0 aus dem über einem endlichen Intervall $[0, t_e]$ bekannten Verlauf der Eingangsgröße $\underline{u}_{[0, t_e]}$ und der Ausgangsgröße $\underline{y}_{[0, t_e]}$ bestimmt werden kann [45].

Diese Definition besagt demnach, dass bei einem beobachtbaren System die Kenntnis der Verläufe der System Ein- und Ausgänge ausreicht, um die internen Zustände des Systems vom aktuellen Zeitpunkt t_e bis zum Ausgangszustand x_0 wieder herzustellen.

Beobachtbarkeit linearer Systeme

Für lineare Systeme der Form

$$\dot{\underline{x}} = \underline{A}\underline{x}(t) + \underline{B}\underline{u}(t)\tag{5.5}$$

$$\underline{y} = \underline{C}\underline{x}(t)\tag{5.6}$$

lässt sich die Eigenschaft der Beobachtbarkeit mit Hilfe einer Ranguntersuchung der Beobachtbarkeitsmatrix \mathbf{Q}_B überprüfen, die sich aus der linearen Systemmatrix \underline{A} und der Messmatrix \underline{C} zusammensetzt,

$$\mathbf{Q}_B = \begin{pmatrix} \underline{C} \\ \underline{C}\underline{A} \\ \underline{C}\underline{A}^2 \\ \vdots \\ \underline{C}\underline{A}^{n-1} \end{pmatrix} .\tag{5.7}$$

Hat diese Matrix vollen Rang, so ist das System vollständig beobachtbar.

Beobachtbarkeit nichtlinearer Systeme

Im Gegensatz zu linearen Systemen gestaltet sich die Beobachtbarkeitsanalyse nichtlinearer Systeme, die der Form 5.4 genügen, schwieriger. In der Darstellung aus Gleichung 5.4 stellt $f(\underline{x}(t), \underline{u}(t))$ eine nichtlineare Funktion dar.

In diesem Fall beweist die Berechnung der Beobachtungsmatrix \mathbf{Q}_B des um einen Arbeitspunkt $\underline{x}_s, \underline{u}_s$ linearisierten Systems mit den System- und Messmatrizen

$$\mathbf{A} = \left. \frac{\partial f(\underline{x}(t), \underline{u}(t))}{\partial \underline{x}} \right|_{\underline{x}_s, \underline{u}_s} \quad (5.8)$$

$$\mathbf{C} = \left. \frac{\partial h(\underline{x}(t))}{\partial \underline{x}} \right|_{\underline{x}_s, \underline{u}_s} \quad (5.9)$$

nur die sogenannte lokale Beobachtbarkeit, falls die berechnete Matrix, wie im linearen Fall, vollen Rang besitzt.

Um ein nichtlineares System jedoch auf globale Beobachtbarkeit untersuchen zu können, müssen weitergehende Methoden angewendet werden. In [57] werden Bedingungen formuliert, die erfüllt sein müssen, damit ein nichtlineares System beobachtbar ist. Da im weiteren Verlauf der Arbeit nur die Beobachtbarkeit für eine Ausgangsgröße untersucht wird, beschränkt sich die Herleitung der Beobachtbarkeitsbedingungen auf diesen Fall. Für den komplexeren Fall mehrerer Ausgangsgrößen sei der interessierte Leser auf [57] verwiesen.

Ausgangspunkt der Beobachtbarkeitsanalyse ist die Beobachtbarkeitsabbildung

$$\underline{q}(\underline{x}, \underline{u}) = \begin{bmatrix} y \\ \dot{y} \\ \vdots \\ \overset{(k-1)}{y} \end{bmatrix}, \quad (5.10)$$

$$\underline{x} \in \mathbf{R}^n, \quad k \geq n$$

die einen Zusammenhang zwischen den Zustandsgrößen \underline{x} und den Zeitableitungen der Ausgangsgröße y darstellt, wobei

$$\dot{y} = \frac{\partial h(\underline{x})}{\partial \underline{x}} \cdot \dot{\underline{x}} = \frac{\partial h(\underline{x})}{\partial \underline{x}} \cdot \underline{f}(\underline{x}, \underline{u}) \quad (5.11)$$

$$\begin{aligned} \ddot{y} &= \frac{\partial}{\partial \underline{x}} \left(\frac{\partial h(\underline{x})}{\partial \underline{x}} \cdot \underline{f}(\underline{x}, \underline{u}) \right) \cdot \underline{f}(\underline{x}, \underline{u}) + \frac{\partial}{\partial \underline{u}} \left(\frac{\partial h(\underline{x})}{\partial \underline{x}} \cdot \underline{f}(\underline{x}, \underline{u}) \right) \cdot \dot{\underline{u}} \\ &\vdots \end{aligned} \quad (5.12)$$

gilt.

Im Unterschied zu linearen Systemen ist die Anzahl $k - 1$ der Zeitableitungen nicht vorab festgelegt [57]. Im Allgemeinen stellt die Beobachtbarkeitsabbildung 5.10 ein überbestimmtes, nichtlineares Gleichungssystem für \underline{x} dar. Zur Bestimmung des n -dimensionalen Vektors \underline{x} benötigt man mindestens n dieser Gleichungen. Diese werden zu einer sogenannten Auswahlabbildung $\underline{q}_A(\underline{x}, \underline{u}) \in \mathbf{R}^{n_x}$ zusammengefasst. Ist es möglich, die Auswahlabbildungen im kompletten Wertebereich zu invertieren, so ist das zugehörige nichtlineare System global beobachtbar. Eine analytische Lösung dieser nichtlinearen Gleichungen ist in den meisten Fällen jedoch schwierig zu bestimmen [57].

Eine einfachere Methode zur Analyse der Beobachtbarkeit nichtlinearer Systeme ist deren Überprüfung auf lokale Beobachtbarkeit in der Umgebung eines Punktes $(\underline{x}_s, \underline{u}_s)$, indem die Invertierbarkeit der Auswahlabbildung $\underline{q}_A(\underline{x}, \underline{u})$ nur in der Umgebung des Punktes $(\underline{x}_s, \underline{u}_s)$ untersucht wird. Dazu bildet man die zugehörige Jacobi-Matrix $\partial \underline{q}(\underline{x}, \underline{u}) / \partial \underline{x}$ und überprüft diese auf ihren Rang. Erfüllt die ermittelte Beobachtbarkeitsmatrix $\mathbf{Q}_B(\underline{x}, \underline{u})$ die Rangbedingung

$$\begin{aligned} \text{Rang} \mathbf{Q}_B(\underline{x}_s, \underline{u}_s) &= n \quad \forall \underline{x} \in \mathbb{R}^n \quad \text{mit} \\ \mathbf{Q}_B(\underline{x}_s, \underline{u}_s) &= \left. \frac{\partial \underline{q}(\underline{x}, \underline{u})}{\partial \underline{x}} \right|_{\underline{x}=\underline{x}_s, \underline{u}=\underline{u}_s}, \end{aligned} \quad (5.13)$$

dann ist das betrachtete System in der Umgebung des Punktes $(\underline{x}_s, \underline{u}_s)$ lokal beobachtbar.

5.2.1 Beobachtbarkeit des Ein-Substrat-Modells

Das im vorigen Kapitel entwickelte Modell zur Fermentation des Bakteriums *Streptococcus thermophilus*, welches in Gl. 4.46 dargestellt ist, soll im Folgenden auf Beobachtbarkeit überprüft werden. Der Zustandsvektor des Systems ist gemäß

$$\underline{x} = \begin{bmatrix} c_X \\ c_S \\ c_P \end{bmatrix} \quad (5.14)$$

definiert. Falls alle Zustandsgrößen direkt messbar sind, ist das System im Arbeitsbereich beobachtbar.

Um die Beobachtbarkeit des Systems formal zu überprüfen, wird als Messgröße die Konzentration des Produkts Laktat im Medium festgelegt. Für den Systemausgang gilt also $y = x_3 = c_P$. Um die Beobachtbarkeit des Systems bei Messung der Pro-

duktkonzentration bewerten zu können, muss die dazugehörige Beobachtbarkeitsabbildung aufgestellt werden. Diese ergibt sich gemäß Gleichung (5.10) zu

$$\begin{aligned} \underline{q}_1(\underline{x}) &= \begin{bmatrix} x_3 \\ \dot{x}_3 \\ \ddot{x}_3 \end{bmatrix} \quad \text{mit} \\ \dot{x}_3 &= Y_P^* \mu_{max} \frac{c_S}{K_S + c_S} \frac{K_P}{K_P + c_P} c_X, \\ \ddot{x}_3 &= -Y_P^* \mu_{max}^2 c_S K_P^2 c_X \cdot \left(\frac{-c_S K_S c_P - c_S K_S K_P - c_S^2 c_P - c_S^2 K_P}{(c_S + K_S)^3 (c_P + K_P)^3} \right. \\ &\quad \left. + \frac{c_X K_S Y_S^* c_P + Y_P^* K_S c_S c_X + Y_P^* c_S^2 c_X + Y_S^* K_S K_P c_X}{(c_S + K_S)^3 (c_P + K_P)^3} \right). \end{aligned} \quad (5.15)$$

Daraus lässt sich mit $\underline{x} = [c_X \quad c_S \quad c_P]^T$ die Beobachtbarkeitsmatrix $\mathbf{Q}_B(\underline{x}) = \partial \underline{q}(\underline{x}) / \partial \underline{x}$ bestimmen [57],

$$\mathbf{Q}_B(\underline{x}) = \begin{bmatrix} 0 & 0 & 1 \\ \beta_1 & \beta_2 & \beta_3 \\ \gamma_1 & \gamma_2 & \gamma_3 \end{bmatrix} \quad \text{mit} \quad (5.16)$$

$$\begin{aligned} \beta_1 &= \frac{Y_P^* \mu_{max} c_S K_P}{(c_S + K_S)(c_P + K_P)}, \\ \beta_2 &= \frac{Y_P^* \mu_{max} K_S K_P c_X}{(c_S + K_S)^2 (c_P + K_P)}, \\ \beta_3 &= -\frac{Y_P^* \mu_{max} c_S K_P c_X}{(c_S + K_S)(c_P + K_P)^2}, \\ \gamma_1 &= -Y_P^* \mu_{max}^2 K_P^2 c_S \cdot \left(\frac{-c_S K_S c_P - c_P K_S K_P - c_S^2 c_P - c_S^2 K_P}{(c_S + K_S)^3 (c_P + K_P)^3} \right. \\ &\quad \left. + \frac{2c_X K_S K_P (Y_S^*)^2 + 2c_X K_S c_P Y_S^* + 2c_X c_S K_S Y_P^* + 2c_X c_S^2 Y_P^*}{(c_S + K_S)^3 (c_P + K_P)^3} \right) \end{aligned} \quad (5.17)$$

$$\begin{aligned}
\gamma_2 &= -Y_P^* \mu_{max}^2 K_P^2 K_S c_X \cdot \left(\frac{-2c_S K_S c_P - 2c_S K_S K_P - 2c_P c_S^2 - 2c_S^2 K_P}{(c_S + K_S)^4 (c_P + K_P)^3} \right. \\
&\quad - \frac{2c_X c_S c_P Y_S^* + 2c_X c_S K_P Y_S^*}{(c_S + K_S)^4 (c_P + K_P)^3} + \frac{c_X K_S c_P Y_S^* + K_S c_X Y_S^* K_P}{(c_S + K_S)^4 (c_P + K_P)^3} \\
&\quad \left. + \frac{2c_X c_S K_S Y_P^* + 2c_X c_S K_S Y_P^* + 2c_X c_S^2 Y_P^*}{(c_S + K_S)^4 (c_P + K_P)^3} \right). \\
\gamma_3 &= Y_P^* \mu_{max}^2 c_X K_P^2 \cdot \left(\frac{-2c_S K_S c_P - 2c_S K_S K_P - 2c_P c_S^2 - 2K_P c_S^2}{(c_S + K_S)^3 (c_P + K_P)^4} \right. \\
&\quad \left. + \frac{2c_X K_S c_P Y_S^* + 2c_X K_S K_P Y_S^* + 3c_S c_X K_S Y_P^* + 3c_S^2 c_X Y_P^*}{(c_S + K_S)^3 (c_P + K_P)^4} \right)
\end{aligned} \tag{5.18}$$

Für die abgeleitete Beobachtbarkeitsmatrix muss ermittelt werden, ob sie die Rangbedingung erfüllt und das System somit beobachtbar ist. Für den Arbeitsbereich, in dem das System beobachtbar sein soll, gelten für die Konzentrationen des Substrats und des Produkts $c_S > 0$ beziehungsweise $c_P > 0$. Diese Annahmen sind gerechtfertigt, da während des kompletten Fermentationsverlaufs Laktose im Medium in ausreichender Menge vorhanden sein muss. Des Weiteren beginnt mit der Inokulation der Bakterien die Laktatproduktion. Es muss also gezeigt werden, dass die erste und zweite Spalte der Beobachtbarkeitsmatrix linear unabhängig sind. Ist dies der Fall, so ist das System im Arbeitsbereich beobachtbar.

Für die zweite Zeile gilt

$$\begin{aligned}
\beta_1 \cdot \alpha &= \beta_2 \\
\text{mit} \\
\alpha &= \frac{c_X K_S}{c_S (K_S + c_S)}.
\end{aligned} \tag{5.19}$$

Multipliziert man das erste Element der dritten Zeile mit dem Faktor α und subtrahiert das zweite Element, so erhält man

$$\gamma_1 \cdot \alpha - \gamma_2 = \frac{-Y_P^* \mu_{max}^2 K_P^2 K_S c_X (K_S c_S + 2c_X c_S Y_S^* + c_X K_S Y_S^* + c_S^2)}{(c_S + K_S)^4 (c_P + K_P)^2}.$$

Daraus folgt unter der Bedingung positiver Koeffizienten K_i, Y_i^* , dass dieser Term nicht null ist. Das bedeutet, dass sämtliche Spalten linear unabhängig sind. Die Beobachtbarkeitsmatrix $\mathbf{Q}_B(\underline{x})$ besitzt vollen Rang und das System ist im Arbeitsbereich beobachtbar.

5.3 Modellbasierte Beobachterverfahren

Nachdem im vorigen Abschnitt gezeigt wurde, dass das entwickelte mathematische Modell des Fermentationsprozesses des Bakteriums *Streptococcus thermophilus* die Eigenschaft der Beobachtbarkeit erfüllt, werden im Folgenden Beobachterverfahren vorgestellt, die auf einem mathematischen Prozessmodell basieren. Mit Hilfe dieser Methoden ist es möglich, nicht messbare Prozessgrößen anhand verfügbarer Messdaten zu schätzen.

5.3.1 Das Kalman Filter

Das Kalman Filter [38, 39] ist ein häufig eingesetztes Beobachterverfahren, welches ausgehend von einem linearen Prozessmodell und unter Berücksichtigung stochastischer Größen sowohl für den Modellfehler als auch für den Messfehler die internen Zustandsgrößen des zu beobachtenden Prozesses bestimmt.

Das betrachtete lineare Prozessmodell zum Zeitpunkt t_k in diskreter Form ist durch

$$\underline{x}_k = \mathbf{A}_{k-1}\underline{x}_{k-1} + \underline{w}_{k-1} \quad (5.20)$$

$$\underline{y}_k = \mathbf{C}_k\underline{x}_k + \underline{v}_k \quad (5.21)$$

gegeben [19], wobei \underline{w}_k und \underline{v}_k mittelwertfreie weiße Rauschprozesse darstellen. Die nichtstationären stochastischen Rauschprozesse sind wie folgt definiert

$$E\{\underline{w}_k\} = \underline{0} \quad (5.22)$$

$$E\{\underline{v}_k\} = \underline{0} \quad (5.23)$$

$$E\{\underline{w}_k \underline{w}_k^T\} = \mathbf{Q}_k \quad (5.24)$$

$$E\{\underline{v}_k \underline{v}_k^T\} = \mathbf{R}_k \quad (5.25)$$

mit den Kovarianzmatrizen des Messfehlers \mathbf{R}_k und des Systemrauschens \mathbf{Q}_k . Der a priori Schätzwert zum Zeitpunkt t_k sei $\hat{\underline{x}}(-)$. Mit Hilfe der eintreffenden Messwerte wird dieser Wert korrigiert, so dass sich unter Verwendung der Gewichtungsmatrizen \mathbf{K}_k' und \mathbf{K}_k der a posteriori Schätzwert $\hat{\underline{x}}(+)$ ergibt,

$$\hat{\underline{x}}_k(+) = \mathbf{K}_k' \hat{\underline{x}}_k(-) + \mathbf{K}_k \underline{y}_k. \quad (5.26)$$

Die geschätzten Zustände $\hat{\underline{x}}_k$ ergeben sich als Summe aus dem tatsächlichen Zustand \underline{x}_k und dem Schätzfehler $\tilde{\underline{x}}_k$,

$$\hat{\underline{x}}_k(-) = \underline{x}_k + \tilde{\underline{x}}_k(-) \quad (5.27)$$

$$\hat{\underline{x}}_k(+) = \underline{x}_k + \tilde{\underline{x}}_k(+) \quad (5.28)$$

und somit erhält man für den a posteriori Schätzfehler

$$\tilde{\underline{x}}_k(+) = [\mathbf{K}_k' + \mathbf{K}_k \mathbf{C}_k - \mathbf{I}] \underline{x}_k + \mathbf{K}_k' \tilde{\underline{x}}_k(-) + \mathbf{K}_k \underline{v}_k. \quad (5.29)$$

Da die Schätzung konsistent sein soll, ergibt sich wegen $E\{\underline{w}_k\} = \underline{0}$ und $E\{\underline{v}_k\} = \underline{0}$ die Kalmanverstärkung \mathbf{K}_k' zu

$$\mathbf{K}_k' = \mathbf{I} - \mathbf{K}_k \mathbf{C}_k. \quad (5.30)$$

Ersetzt man in Gleichung 5.26 die Matrix \mathbf{K}_k' durch obige Beziehung, ergibt sich für den a posteriori Schätzwert $\hat{\underline{x}}_k(+)$ der folgenden Ausdruck,

$$\hat{\underline{x}}_k(+) = \hat{\underline{x}}_k(-) + \mathbf{K}_k \left[\underline{y}_k - \mathbf{C}_k \hat{\underline{x}}_k(-) \right]. \quad (5.31)$$

Der zugehörige Schätzfehler berechnet sich dann durch

$$\tilde{\underline{x}}_k(+) = [\mathbf{I} - \mathbf{K}_k \mathbf{C}_k] \tilde{\underline{x}}_k(-) + \mathbf{K}_k \underline{v}_k. \quad (5.32)$$

Die Kalmanverstärkungsmatrix bestimmt man gemäß[19], indem man zuerst im Filterschritt die Kovarianzmatrix $\mathbf{P}_k(+)$

$$\mathbf{P}_k(+) = E \{ \tilde{\underline{x}}_k(+) \cdot \tilde{\underline{x}}_k^T(+) \} \quad (5.33)$$

des Schätzfehlers minimiert,

$$J_k = E \{ \tilde{\underline{x}}_k(+) \cdot \tilde{\underline{x}}_k^T(+) \} = \text{Min}. \quad (5.34)$$

Einsetzen von Gleichung 5.32 in Gleichung 5.34 liefert eine Abhängigkeit des Gütefunktionalen von der Verstärkungsmatrix \mathbf{K}_k . Als Bedingung für ein Minimum gilt

$$\frac{\partial J_k}{\partial \mathbf{K}_k} = 0. \quad (5.35)$$

Löst man das Ergebnis dieser Gleichung nach \mathbf{K}_k auf, erhält man für die Kalmanverstärkungsmatrix

$$\mathbf{K}_k = \mathbf{P}_k(-) \mathbf{C}_k^T [\mathbf{C}_k \mathbf{P}_k(-) \mathbf{C}_k^T + \mathbf{R}_k]^{-1}. \quad (5.36)$$

Die a priori und a posteriori Kovarianzen, $\mathbf{P}_k(-)$ und $\mathbf{P}_k(+)$ sind durch die folgenden Gleichungen bestimmt [19],

$$\mathbf{P}_k(-) = \mathbf{A} \mathbf{P}_{k-1}(+) \mathbf{A}^T + \mathbf{Q}_{k-1}, \quad (5.37)$$

$$\mathbf{P}_k(+) = (\mathbf{I} - \mathbf{K}_k \mathbf{C}_k) \mathbf{P}_k(-). \quad (5.38)$$

5.3.2 Das Extended Kalman Filter (EKF)

Das im vorigen Abschnitt vorgestellte Kalman Filter ist in dieser Art nur für lineare Systeme anwendbar. Da es sich bei biotechnologischen Prozessen jedoch um Systeme gekoppelter, nichtlinearer Differentialgleichungen handelt, muss das gewöhnliche Kalman Filter erweitert werden, damit es auch für biotechnologische Systeme angewendet werden kann. Dabei wird von dem bereits in Gleichung (5.4) eingeführten Modell ausgegangen

$$\begin{aligned} \dot{\underline{x}} &= \underline{f}(\underline{x}(t), \underline{u}(t)) + \underline{w}(t) & t \geq 0 & \quad \underline{x}(0) = \underline{x}_0 \\ \underline{y} &= \underline{h}(\underline{x}(t)) + \underline{v}(t) & t \geq 0 & \quad , \end{aligned} \quad (5.39)$$

wobei $\underline{f}(\underline{x}(t), \underline{u}(t))$ eine nichtlineare Funktion darstellt und \underline{w} beziehungsweise \underline{v} die mittelwertfreien Modell- und Messunsicherheiten repräsentieren. Im weiteren Verlauf der Herleitung wird davon ausgegangen, dass es sich bei der Stellgröße u um einen konstanten Wert handelt, so dass $\underline{f}(\underline{x}(t), \underline{u}(t)) = \underline{f}(\underline{x}(t))$ gilt.

Die Integration der Systemdifferentialgleichung ergibt für den Zustand \underline{x} zum Zeitpunkt t ausgehend von einem Startwert $\underline{x}(t_{k-1})$ folgende Beziehung

$$\underline{x}(t) = \underline{x}(t_{k-1}) + \int_{t_{k-1}}^t \underline{f}(\underline{x}(\tau)) d\tau + \int_{t_{k-1}}^t \underline{w}(\tau) d\tau. \quad (5.40)$$

Mittelwertbildung und anschließende Differentiation dieses Resultats liefert

$$\frac{d}{dt} E[\underline{x}(t)] = E[\underline{f}(\underline{x}(t))] \quad (5.41)$$

$$\Leftrightarrow \dot{\hat{\underline{x}}} = \hat{\underline{f}}(\underline{x}(t)). \quad (5.42)$$

Um den Erwartungswert $\hat{\underline{f}}(\underline{x}(t))$ der nichtlinearen Funktion zu bestimmen, wird diese Funktion mit Hilfe einer Taylor-Reihe an der Stelle des aktuellsten Schätzwertes $\hat{\underline{x}}$ linearisiert und man erhält

$$\hat{\underline{f}}(\underline{x}(t)) \approx \underline{f}(\hat{\underline{x}}(t)) + \left. \frac{\partial \underline{f}}{\partial \underline{x}} \right|_{\underline{x}=\hat{\underline{x}}} (\underline{x} - \hat{\underline{x}}) + \dots \quad (5.43)$$

Bildet man wiederum auf beiden Seiten den Erwartungswert und vernachlässigt sämtliche Terme höherer Ordnung, ergibt sich

$$\hat{\underline{f}}(\underline{x}(t)) = \underline{f}(\hat{\underline{x}}(t)) + \underline{0} + \dots \quad (5.44)$$

und weiterhin als Näherung erster Ordnung für die Modellannahme in Gleichung (5.39)

$$\dot{\hat{\underline{x}}}(t) = \underline{f}(\hat{\underline{x}}(t)), \quad t_{k-1} \leq t < t_k. \quad (5.45)$$

Die kontinuierliche Differentialgleichung zur Berechnung der Kovarianzmatrix $\mathbf{P}(t)$ ergibt sich zu [19]

$$\dot{\mathbf{P}}(t) = \mathbf{F}(\hat{\underline{x}}(t))\mathbf{P}(t) + \mathbf{P}(t)\mathbf{F}^T(\hat{\underline{x}}(t)) + \mathbf{Q}(t), \quad t_{k-1} \leq t < t_k, \quad (5.46)$$

wobei sich die einzelnen Elemente f_{ij} der Matrix $\mathbf{F}(\hat{\underline{x}}(t))$ über

$$f_{ij}(\hat{\underline{x}}(t), t) = \left. \frac{\partial f_i(\underline{x}(t))}{\partial x_j(t)} \right|_{\underline{x}=\hat{\underline{x}}} \quad (5.47)$$

berechnen.

Um den Filteralgorithmus zu vervollständigen, müssen zusätzlich die Informationen berücksichtigt werden, die auf Grund der neu eintreffenden Messungen zur Verfügung stehen.

Die Gleichungen zur Bestimmung des mit Hilfe der neu eintreffenden Messwerte korrigierten Schätzwertes ergeben sich zu

$$\begin{aligned} \hat{\underline{x}}_k(+) &= \hat{\underline{x}}_k(-) + \mathbf{K}_k \left[\underline{y}_k - \underline{h}_k(\hat{\underline{x}}_k(-)) \right] \\ \mathbf{K}_k &= \mathbf{P}_k(-) \mathbf{H}_k^T(\hat{\underline{x}}_k(-)) \left[\mathbf{H}_k(\hat{\underline{x}}_k(-)) \mathbf{P}_k(-) \mathbf{H}_k^T(\hat{\underline{x}}_k(-)) + \mathbf{R}_k \right]^{-1} \\ \mathbf{P}_k(+) &= [\mathbf{I} - \mathbf{K}_k \mathbf{H}_k(\hat{\underline{x}}_k(-))] \mathbf{P}_k(-) \end{aligned} \quad (5.48)$$

Dabei ist $\mathbf{H}_k(\hat{\underline{x}}_k(-))$ die an der Stelle $x = \hat{\underline{x}}_k(-)$ linearisierte Messgleichung

$$\mathbf{H}_k(\hat{\underline{x}}_k(-)) = \left. \frac{\partial \underline{h}_k(\underline{x})}{\partial \underline{x}} \right|_{\underline{x}=\hat{\underline{x}}_k(-)} \quad (5.49)$$

Die Gleichungen (5.45), (5.46) und (5.48) beschreiben somit den Filter-Algorithmus des erweiterten Kalman Filters für nichtlineare Systeme mit diskret auftretenden Messwerten. Eine vollständige Herleitung der oben dargestellten Gleichungen ist in [19] gegeben.

5.3.3 Optimierungsbasierte Schätzverfahren

Bei der Zustandsschätzung mit Hilfe optimierungsbasierter Schätzverfahren werden die gesuchten Zustände mit Hilfe eines Optimierungsverfahrens ermittelt. Dazu wird ein Gütefunktional J definiert, welches zu minimieren ist. In der Literatur werden verschiedenen Ansätze zur Aufstellung des Gütefunktional propagiert. Das in [11] vorgestellte Kriterium hängt nur von den unbekannten Anfangsbedingungen ab, $J = J(\underline{x}_0)$ und vernachlässigt Modell- und Messunsicherheiten. Die Formulierung in [21] ergänzt die in [11] aufgestellte Formulierung um eine optimale Parameterschätzung, so dass das zu minimierende Gütekriterium sowohl von den Anfangsbedingungen \underline{x}_0 als auch dem modellzugehörigen Parametersatz \underline{p} abhängt, $J = J(\underline{x}_0, \underline{p})$.

Eine allgemeinere Formulierung ist in [55] zu finden. Dabei wird davon ausgegangen, dass jeder Zustand \underline{x}_k mit einem individuellen Fehler \underline{w}_k behaftet ist. Die Modellgleichungen sind dabei über

$$\underline{x}_k = \underline{f}(\underline{x}_{k-1}, \underline{u}_{k-1}) + \underline{w}_{k-1} \quad (5.50)$$

$$\underline{y}_k = \underline{h}(\underline{x}_k) + \underline{v}_k \quad (5.51)$$

gegeben, wobei \underline{w}_k und \underline{v}_k Modell- und Messunsicherheiten repräsentieren. Das Gütefunktional ergibt sich dann als eine Funktion, die von diesem Fehler abhängt, $J = J(\underline{w}_k, \underline{v}_k)$. Im Folgenden wird für das optimierungsbasierte Schätzverfahren diese Formulierung verwendet.

Formulierung des Schätzproblems mit Hilfe der Methode der kleinsten Fehlerquadrate - der *Full Horizon Estimator*

Die Aufgabenstellung dieses Schätzproblems lässt sich wie folgt formulieren [55]:

Mit Hilfe eines gegebenen Anfangszustandes $\underline{x}_{1|0}$ und vorhandener Messwerte $\underline{y}_1, \dots, \underline{y}_k$, soll der Fehler des Anfangswertes \underline{w}_0 sowie die unbekannte Fehlersequenz $\{\underline{w}_1, \dots, \underline{w}_{k-1}\}$ bestimmt werden.

Da es gewöhnlich unzählige Kombinationen der gesuchten Fehlersequenz gibt, die zu einer Übereinstimmung zwischen Modellresultaten und Messwerten führen, muss ein Kriterium gefunden werden, welches die beste Kombination der unbekannten Variablen bestimmt. Dies erfolgt für jeden Zeitpunkt k über die Minimierung des folgenden Gütekriteriums [55]

$$J(\underline{w}_0, \dots, \underline{w}_{k-1}) = \underline{w}_0^T \mathbf{P}_{1|0}^{-1} \underline{w}_0 + \sum_{l=1}^{k-1} \underline{w}_l^T \mathbf{Q}^{-1} \underline{w}_l + \sum_{l=1}^k \underline{v}_l^T \mathbf{R}^{-1} \underline{v}_l \quad (5.52)$$

$$[\underline{w}_0, \dots, \underline{w}_{k-1}] = \arg \min_{\underline{w}_0, \dots, \underline{w}_{k-1}} J \quad .$$

unter den Nebenbedingungen

$$\underline{v}_l = \underline{y}_l - \underline{h}(\underline{x}_l) \quad (5.53)$$

$$\underline{x}_l = \underline{f}(\underline{x}_{l-1}, \underline{u}_{l-1}) + \underline{w}_{l-1} \quad (5.54)$$

$$\hat{\underline{x}}_0 = \underline{x}_0 + \underline{w}_0 \quad (5.55)$$

Das Gütekriterium $J(\underline{w}_0, \dots, \underline{w}_{k-1})$ aus Gl. 5.52 besteht aus der Summe dreier Terme. Der erste Term berücksichtigt die Fehler in den Anfangsbedingungen, der zweite Term kommt durch Abweichungen in den folgenden Systemzuständen zustande und der dritte Term betrachtet die Unsicherheiten im Messmodell, wobei anzumerken ist, dass \underline{v}_l eine Funktion von \underline{x}_l und somit auch eine Funktion von \underline{w}_{l-1} ist. Die Nebenbedingungen gewährleisten dabei, dass sich die realen Werte aus den geschätzten Werten und einem zugehörigen Fehler zusammensetzen. Die positiv definiten Matrizen $\mathbf{P}_{1|0}^{-1}$, \mathbf{Q}^{-1} und \mathbf{R}^{-1} geben an, welches Vertrauen den Anfangswerten, dem Systemmodell und den Messwerten entgegengebracht wird.

Das vorliegende Optimierungsproblem kann durch eine Kombination aus numerischer Integration und nichtlinearer Optimierung gelöst werden. Da bei dieser Schätzmethode sämtliche Messwerte über den vollständigen Messhorizont herangezogen werden, spricht man dabei auch von der Methode des *Full Horizon*.

Die Methode des *Moving Horizon*

Mit zunehmender Zahl von Messungen nimmt die Dimension des Optimierungsproblems linear zu. Damit das Schätzproblem jedoch weiterhin handhabbar bleibt, ist es notwendig, die Anzahl der zu schätzenden Größen einzuschränken. Dazu wird in [55] ein sich bewegendes Zeitfenster fester Größe eingeführt, mit dessen Hilfe die Anzahl der für die Zustandsschätzung verwendeten Messwerte konstant bleibt. Zu Beginn des Prozesses erfolgt die Schätzung mit Hilfe der im vorigen Abschnitt vorgestellten Methode der kleinsten Fehlerquadrate. Überschreitet die Anzahl der zurückliegenden Datensätze die Breite des Beobachtungsfensters, so wird bei jedem neu eintreffenden Messwert der am weitesten zurückliegende Datensatz verworfen, so dass der Beobachtungshorizont konstant bleibt. Die Arbeitsweise des *Moving Horizon Estimators* ist in Abb. 5.2 schematisch dargestellt. Zu allen diskreten Zeitpunkten $t_i, i = 0, \dots, k$ stehen aktualisierte Messwerte zur Verfügung (rot markiert). Zur Zustandsschätzung im Zeitpunkt $t = t_k$ werden zur Lösung nur noch die Messwerte zwischen $t = t_{k-m}$ und t_k herangezogen (heller Bereich). Die weiter zurückliegenden Messwerte der Zeitpunkte $t < t_{k-m}$ stehen nicht mehr zur Verfügung (dunkler Bereich).

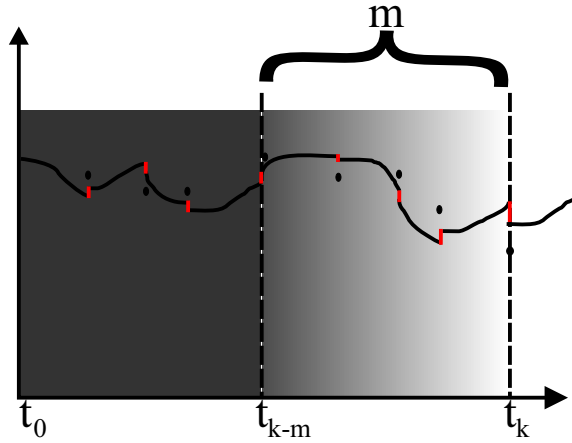


Abb. 5.2: Schematische Darstellung der Arbeitsweise eines *Moving Horizon Estimators* [12].

Für einen Horizont der Länge m ergibt sich das Schätzproblem zum Zeitpunkt k als

$$\begin{aligned}
 J(\underline{w}_{k-m}, \dots, \underline{w}_{k-1}) &= \underline{w}_{k-m}^T \mathbf{P}_{k-m+1|k-m}^{-1} \underline{w}_{k-m} + \\
 &\quad \sum_{l=k-m+1}^{k-1} \underline{w}_l^T \mathbf{Q}^{-1} \underline{w}_l + \sum_{l=k-m+1}^k \underline{v}_l^T \mathbf{R}^{-1} \underline{v}_l \\
 [\underline{w}_{k-m}, \dots, \underline{w}_{k-1}] &= \arg \min_{\underline{w}_{k-m}, \dots, \underline{w}_{k-1}} J \quad .
 \end{aligned} \tag{5.56}$$

unter den Nebenbedingungen

$$\underline{v}_l = \underline{y}_l - \underline{h}(\underline{x}_l) \tag{5.57}$$

$$\underline{x}_l = \underline{f}(\underline{x}_{l-1}, \underline{u}_{l-1}) + \underline{w}_{l-1} \tag{5.58}$$

$$\hat{\underline{x}}_{k-m} = \underline{x}_{k-m} + \underline{w}_{k-m} \quad . \tag{5.59}$$

Dabei repräsentiert \underline{w}_{k-m} die Differenz zwischen geschätztem und realen Zustandswert \underline{x} zum Startzeitpunkt $k - m$ der Messung. $\mathbf{P}_{k-m+1|k-m}^{-1}$ ist die inverse Kovarianzmatrix, die das Vertrauen in die Schätzung $\hat{\underline{x}}_{k-m}$ angibt. Die Berechnung der Kovarianzmatrix erfolgt analog zur Berechnung der Kovarianzmatrix des Extended Kalman Filter. Aufgrund der Tatsache, dass bei der Berechnung des Gütefunktional die Kovarianzmatrix $\mathbf{P}_{k-m+1|k-m}$ verwendet wird, müssen sämtliche $k - m$ Kovarianzmatrizen über der Horizontlänge m zwischengespeichert werden.

5.4 Einsatz der modellbasierten Beobachterverfahren im Fermentationsprozess

In den vorigen Abschnitten wurden verschiedene Möglichkeiten vorgestellt, mit Hilfe derer interne, nicht direkt messbare Prozessgrößen geschätzt und gemessene Größen korrigiert werden können. Im Folgenden wird ein Zustandsschätzer in einem Fermentationsprozess zur Kultivierung des Bakteriums *Streptococcus thermophilus* eingesetzt und auf seine Leistungsfähigkeit hin überprüft.

Primäres Ziel ist dabei die Bestimmung der Biomasse, da deren Konzentration nicht direkt online gemessen werden kann, sondern erst nach Auswertung der aus dem Prozess entnommenen Proben zur Verfügung steht.

5.4.1 Bestimmung interner Prozessgrößen unter Zuhilfenahme des Extended Kalman Filters

Das Extended Kalman Filter wurde in Abschnitt 5.3.2 eingeführt. Als Ausgangsmodell dient das in Kapitel 4.1 hergeleitete Wachstumsmodell, bestehend aus den drei Zustandsgrößen Biomasse, Substrat Laktose und Produkt Laktat. Als Messgrößen stehen die Leitfähigkeit des Mediums, lf , respektive der pH-Wert, pH , zur Verfügung. Beide Größen können quasi kontinuierlich durch Messsonden bestimmt werden. Durch ein Polynom 2. Ordnung können diese Werte mit dem aktuellen Laktatwert in einen mathematischen Zusammenhang gebracht werden, es gilt also

$$c_{P,kor}(t) = a_1 \cdot c_{pH}(t)^2 + b_1 \cdot c_{pH}(t) + c_1 \quad (5.60)$$

beziehungsweise

$$c_{P,kor}(t) = a_2 \cdot c_{lf}(t)^2 + b_2 \cdot c_{lf}(t) + c_2 \quad (5.61)$$

Die für die Polynome charakteristischen Parameter, $a_i, b_i, c_i, (i = 1, 2)$, wurden durch quadratische Regression aus zwei vorhergegangenen Fermentationsdaten bestimmt und an einem dritten verifiziert und sind in Tabelle 5.1 dargestellt.

a_1	-1.6913	a_2	0.0062
b_1	20.3704	b_2	1.7475
c_1	-60.6046	c_2	-6.9134

Tab. 5.1: Charakteristischer Parametersatz für die näherungsweise Berechnung von Laktat aus dem pH-Wert beziehungsweise der Leitfähigkeit.

Zu Prozessbeginn ist der pH-Wert die für die Berechnung relevante Größe. Nach Erreichen eines pH-Wertes von 6.0, dem Zeitpunkt ab dem die pH-Regelung einsetzt um mit Hilfe der Zudosierung von Base den pH-Wert konstant zuhalten, wird die Leitfähigkeit, die auf Grund der erhöhten Basenkonzentration im Medium nun ansteigt, zur Berechnung herangezogen. Der Zusammenhang zwischen Laktat und pH-Wert beziehungsweise Leitfähigkeit ist in Abbildung 5.3 dargestellt.

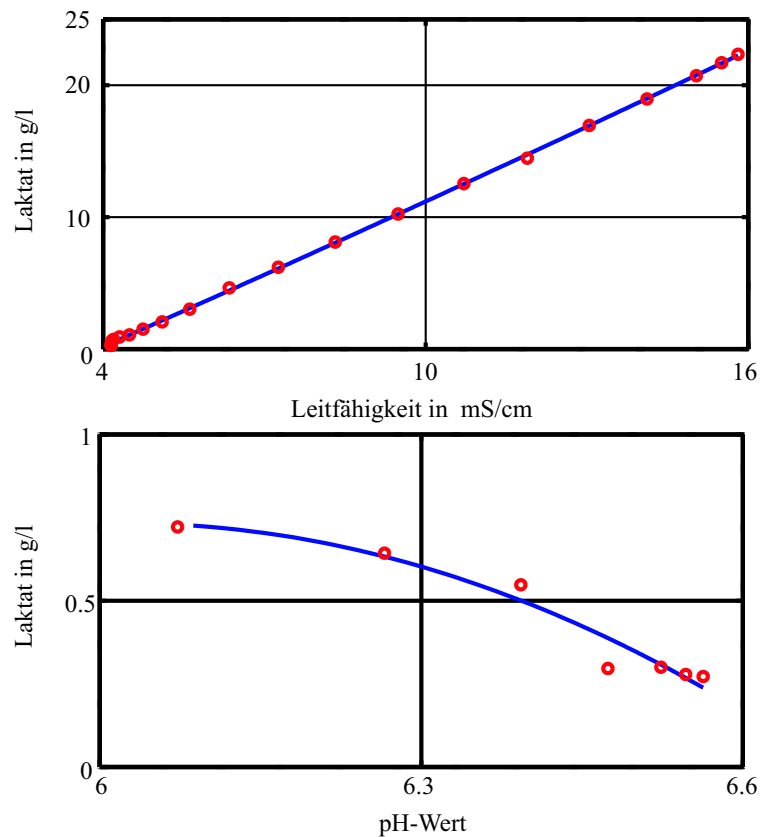


Abb. 5.3: Graphische Darstellung des Zusammenhangs zwischen Laktat und pH-Wert bzw. Leitfähigkeit; \circ : Messung, -: Regressionspolynom zweiter Ordnung.

Eine weitere Messgröße, die zur Zustandsschätzung herangezogen wird, ist die Konzentration des Substrats Laktose im Medium. Diese wird, wie bereits in Kapitel 3 beschrieben, mit Hilfe einer HPLC-Analyse bestimmt. Der Messwert steht eine halbe Stunde nach Probenahme zur Verfügung, so dass bei der Berechnung eine Totzeit von 30 Minuten berücksichtigt werden muss.

Da es sich bei der Kultivierung des *Streptococcus thermophilus* um einen sehr langsamen Prozess handelt, kann der Filteralgorithmus bei jedem neu eintreffenden Messwert für den kompletten Zeitraum der Fermentation ausgewertet werden. Dadurch können die Messwerte der Laktosekonzentration trotz auftretender Totzeit verwendet werden.

Die Leistungsfähigkeit des Beobachters wurde anhand einer Fermentation überprüft, deren Versuchsbedingungen in Kapitel 3 angegeben sind. Das Ergebnis der Zustandsschätzung ist in Abbildung 5.4 zu sehen. Dabei sind die Resultate der Keimzahl in logarithmischem Maßstab, des Substrats Laktose und des Produkts Laktat dargestellt.

Für die Anfangswerte wurde auf Grund des Resultate vorangegangener Versuche

$$\underline{x}_0 = \begin{bmatrix} c_{X,0} \\ c_{S,0} \\ c_{P,0} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1.5 \cdot 10^7 & \text{CFU/ml} \\ 50 & \text{g/l} \\ 0 & \text{g/l} \end{bmatrix}$$

angenommen. Als Kovarianzmatrizen des Prozess- und Messrauschens wurden

$$Q = \begin{bmatrix} 10^{-3} & 0 & 0 \\ 0 & 10^{-3} & 0 \\ 0 & 0 & 10^{-1} \end{bmatrix} \quad \text{und} \quad R = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & 10^{-2} & 0 \\ 0 & 0 & 10^{-4} \end{bmatrix}$$

gewählt, während für die Startwerte der Kalmanverstärkung und der Kovarianzmatrix des Schätzfehlers

$$K_0 = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \quad \text{und} \quad P_0(+) = \begin{bmatrix} 10^4 & 0 & 0 \\ 0 & 10^4 & 0 \\ 0 & 0 & 10^4 \end{bmatrix}$$

angenommen wurde.

Die Resultate zeigen, dass die Schätzung des Produkts Laktat mit den gemessenen Werten beinahe vollständig übereinstimmt. Dies lässt sich auf die quasi kontinuierliche Verfügbarkeit der online messbaren Größen pH-Wert und Leitfähigkeit zurückführen, die in sehr kurzen Taktraten Messinformationen zur Verfügung stellen und direkt mit dem Produkt korrelieren. Die Schätzung des Substrats Laktose ist qualitativ ebenfalls erfolgreich. Man kann deutlich erkennen, dass bei jedem neu eintreffenden Messwert des Substrats der geschätzte Wert in Richtung des tatsächlich

gemessenen Wertes korrigiert wird. Der geschätzte exponentielle Verlauf der Biomasse gibt nur qualitativ die Entwicklung der Biomasse über der Prozesszeit wieder. Die quantitativen Abweichungen von den offline ermittelten Werten sind klar zu sehen. Für eine reine Prozessüberwachung, bei der ausschließlich das exponentielle Wachstum der Bakterien überwacht werden soll, kann das EKF problemlos verwendet werden. Sollen jedoch exakte Werte der Biomasse geschätzt werden, auf denen beispielsweise eine Prozessregelung basieren soll, so sind weiterführende Methoden zu entwickeln, die eine genauere Schätzung ermöglichen.

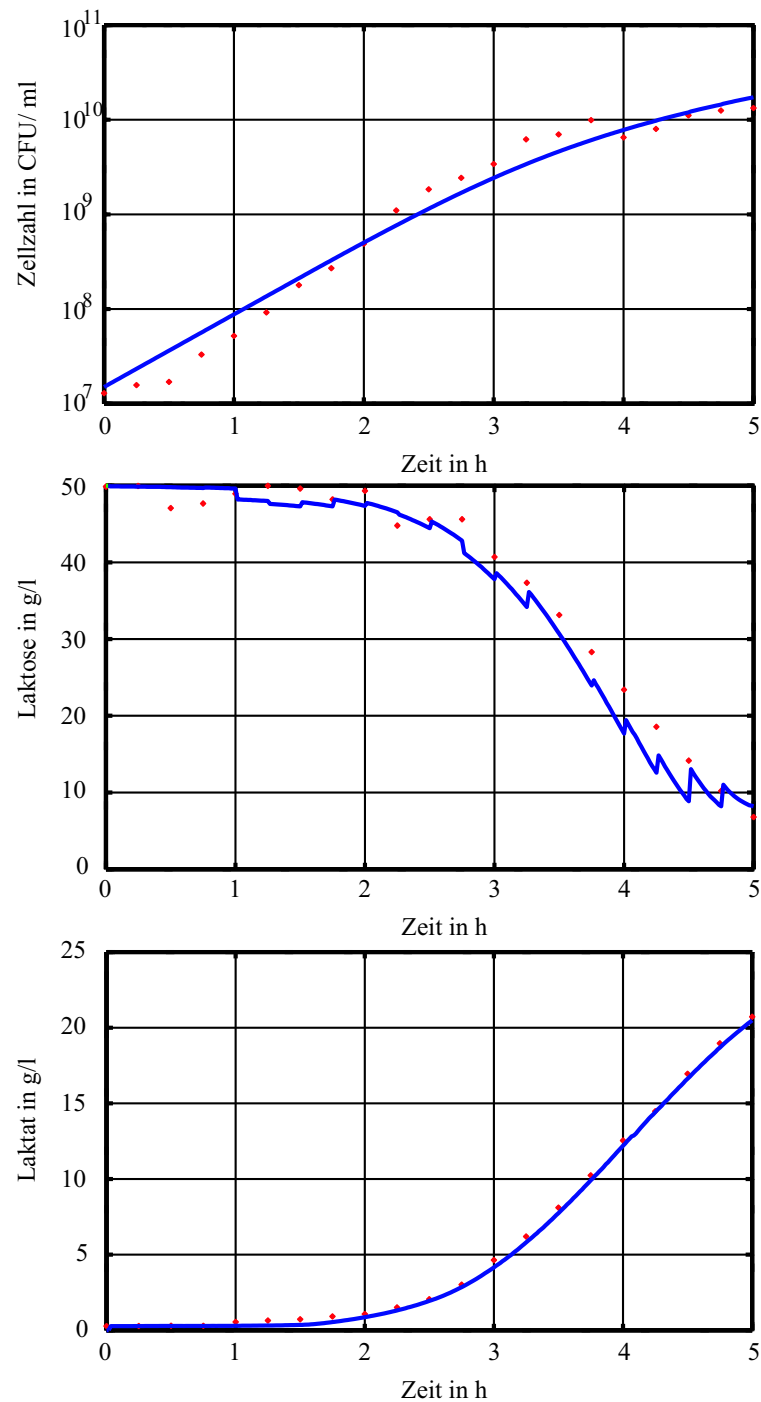


Abb. 5.4: Gemessene (+) und mit Hilfe eines Extended Kalman Filters geschätzte (-) Werte der Keimzahl, des Substrats Laktose und des Produkts Laktat bei einer Fermentation des Bakteriums *Streptococcus thermophilus*.

5.5 Die Methode der Künstlichen Neuronalen Netze

Im Gegensatz zu den modellbasierten Beobacherverfahren, die ein hinreichend exaktes Prozessmodell zur Zustandsschätzung benötigen, basiert das selbstlernende Verfahren der Künstlichen Neuronalen Netze (ANN = Artificial Neural Network) darauf, den Prozessverlauf einzig durch das Training einer vorgegebenen Struktur mit bereits vorhandenen Datensätze vorherzusagen.

Der folgende Abschnitt behandelt die Funktionsweise der ANN und soll einen generellen Überblick über unterschiedliche Arten der ANN geben.

Als biologisches Vorbild der Künstlichen Neuronalen Netze dienen das Nervensystem und das Gehirn, welche eine informationsbildende Einheit darstellen und in der Lage sind, Informationen parallel zu verarbeiten. Der Grundbaustein eines Nervensystems ist das Neuron bzw. die Nervenzelle, eine auf Erregungsleitung spezialisierte Zelle, deren Struktur in Abb. 5.5 dargestellt ist.

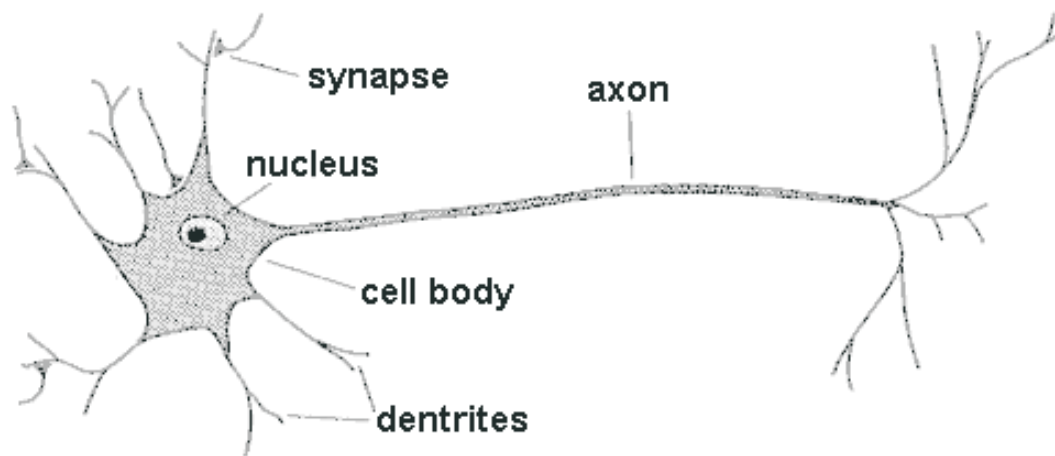


Abb. 5.5: Schematische Darstellung einer Nervenzelle [1].

Die Synapsen dienen als Kontaktstelle zu anderen Nervenzellen. Die empfangenen Erregungen werden an die Dendriten weitergegeben und gelangen über diese in den Zellkörper, wobei die Intensität der Erregungen je nach Länge des Weges, den diese zurücklegen müssen, variiert. Gleichzeitig eintreffende Signale bauen im Zellkörper ein Erregungspotential auf. Am sogenannten Axonhügel wird entschieden, ob das aufgebaute Potential ausreicht, um ein elektrisches Signal freizusetzen. Ist dies der Fall, feuert das Neuron, das heißt, die Erregung wird entlang des Axons freigesetzt

und die nachgelagerten Neuronen werden beeinflusst. Durch ihre elektrische Erregbarkeit und Leitfähigkeit sind Nervenzellen somit in der Lage, Nervenimpulse selektiv weiterzuleiten und im Verbund befähigt, Informationen zu verarbeiten und gegebenenfalls zu speichern [1].

5.5.1 Bestandteile Künstlicher Neuronaler Netze

Zur Erstellung eines ANN muss das biologische Nervensystem abstrakt dargestellt werden. Ein einzelnes Neuron kann dabei, gemäß der Illustration in Abb. 5.6, als simple Recheneinheit modelliert werden.

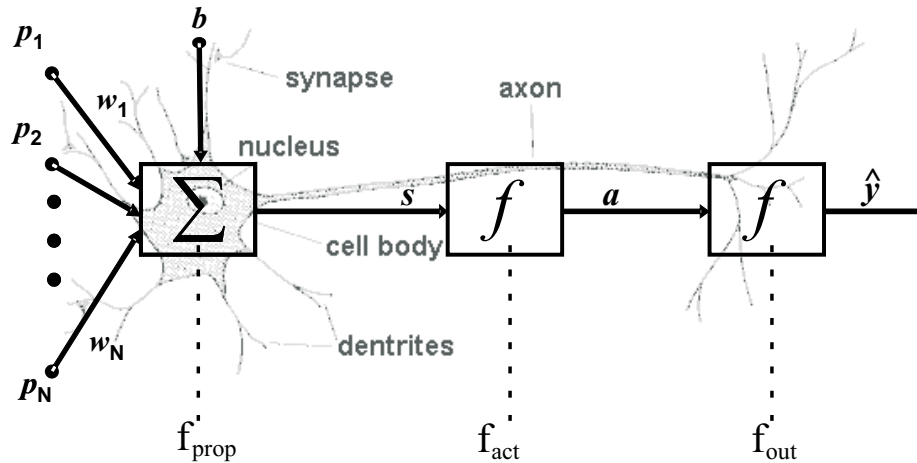


Abb. 5.6: Abstrakte Modellierung einer Nervenzelle in Anlehnung an Abb. 5.5.

Die Elemente $p_i, i = 1, \dots, N$ stellen dabei Eingangssignale dar, die entweder externe Werte der Umwelt oder Ausgabewerte vorgelagerter Neuronen sind. Diese Werte werden mit einem entsprechenden Gewicht w_i bewertet. Das Verbindungsgewicht zwischen den Neuronen kann dabei hemmend oder verstärkend wirken. Die Propagierungsfunktion f_{prop} , die als Zellkern betrachtet werden kann, verarbeitet die eintreffenden Signale anderer Neuronen, die mit den Gewichtungen w_i bewertet sind weiter und stellt das Resultat als Netzeingabe s zur Verfügung. Dabei wird häufig die gewichtete Summe

$$s = \sum_{i=1}^N (p_i \cdot w_i) \quad (5.62)$$

verwendet. Die Summation kann zusätzlich durch einen Schwellenwert b beeinflusst werden. Der mit Hilfe der Propagierungsfunktion ermittelte Eingabewert s entscheidet über die Aktivität des Neurons. Der aktuelle Aktivierungszustand a eines Neurons wird mittels der Aktivierungsfunktion f_{act} berechnet. In der Ausgabefunktion f_{out} wird der Aktivierungszustand in die Netzausgabe \hat{y} umgewandelt. Häufig wird diese Funktion als Identität realisiert, so dass der Aktivierungszustand der Netzausgabe entspricht. Im weiteren Verlauf der Arbeit wird vorausgesetzt, dass die Ausgabefunktion als Identität modelliert ist.

Der Aktivierungszustand

Die Aussagekraft eines Neurons wird durch dessen Aktivierungszustand a beschrieben. Dieser ist zum Zeitpunkt t als

$$a(t) = f_{act}(s(t), a(t-1), b) \quad (5.63)$$

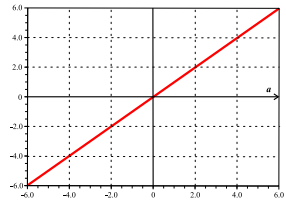
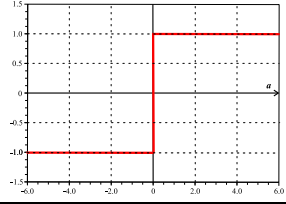
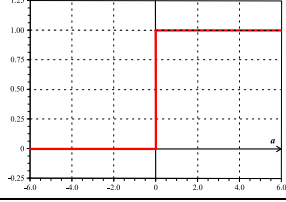
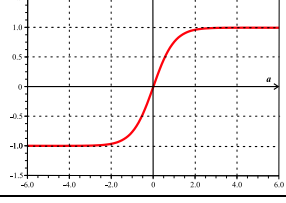
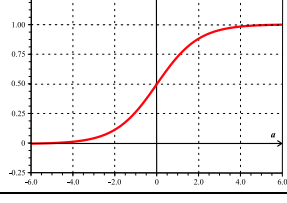
definiert. Der Aktivierungszustand wird also durch eine sogenannte Aktivierungsfunktion bestimmt, die von der aktuellen Netzeingabe $s(t)$, dem vorhergehenden Aktivierungszustand $a(t-1)$ und dem Schwellenwert b abhängt.

Der Schwellenwert

Bei der Berechnung einer neuen Aktivierung eines Neurons kann ein konstanter Schwellenwert b zur Propagierungsfunktion aus Gleichung 5.62 hinzuaddiert beziehungsweise abgezogen werden. Bei einem großen Schwellenwert muss die äußere Anregung ebenfalls entsprechend groß sein, um eine entsprechende Änderung des Netzeingabewertes zu erreichen. Bei einem kleinen Schwellenwert reichen dagegen schon minimale Änderungen der Anregung aus, um den Netzeingabewert zu verändern. Die Empfindlichkeit einzelner Neuronen kann somit durch die Wahl des Schwellenwertes beeinflusst werden.

Die Aktivierungsfunktion

Die Aktivierungsfunktion dient dazu, mit Hilfe des vorigen Aktivierungszustandes, des Schwellenwerts und der Netzeingabe den neuen Aktivierungszustand des Neurons zu bestimmen. Mögliche Aktivierungsfunktionen sind die Heaviside-Funktion oder der Tangens Hyperbolicus [40]. Übertragen auf die reale Nervenzelle ist die Aktivierungsfunktion das Entscheidungskriterium, welches am Axonhügel bestimmt, ob ein Neuron feuert oder nicht. Dabei werden die in Tabelle 5.2 gezeigten Aktivierungsfunktionen am häufigsten verwendet.

<p>Lineare Funktion</p> $f_{act} = m \cdot s$	
<p>Signumfunktion</p> $f_{act} = \text{sign}(s)$	
<p>Stufenfunktion</p> $f_{act} = \begin{cases} +1 & , \text{ für } s \geq 0 \\ 0 & , \text{ sonst} \end{cases}$	
<p>Tangenshyperbolicus-Funktion</p> $f_{act} = \tanh(s) = \frac{1 - e^{-2s}}{1 + e^{2s}}$	
<p>Logistikfunktion</p> $f_{act} = \frac{1}{1 + e^{-s}}$	

Tab. 5.2: Häufig verwendete Aktivierungsfunktionen [41].

5.5.2 Netztopologien

Ein Neuronales Netz besteht aus Neuronen, die untereinander in unterschiedlichen Weisen miteinander verbunden sein können. In sämtlichen hier behandelten Netzen sind diese Neuronen in Schichten eingeteilt, die untereinander verknüpft sind. Jedes Netz besteht dabei aus einer Eingabeschicht, einer Ausgabeschicht, sowie mindestens aus einer versteckten Schicht, der sogenannten *hidden layer*, in der die Eingabe verarbeitet wird.

Das Feedforward Netz

Das Feedforward Netz besteht ausschließlich aus vorwärts gerichteten Verknüpfungen. Die Verbindungen eines Neurons zu einem Nachfolger dürfen nur zu einem Neuron erfolgen, welches sich in der nächsten Schicht befindet. Bei vollverknüpften Feedforward Netzen sind sämtliche Neuronen einer Schicht mit allen Neuronen der nächsten Schicht verbunden, vgl. Abb. 5.7.

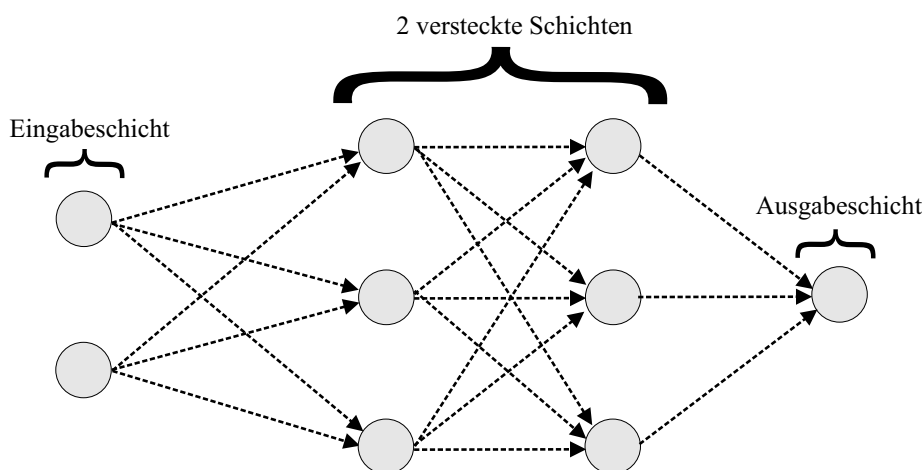


Abb. 5.7: Schematische Darstellung eines Feedforward-Netzes.

Die Aktivierung bei dieser Netzstruktur erfolgt entsprechend der topologischen Ordnung. Das bedeutet, dass zuerst die Eingabeneuronen, anschließend die Neuronen der inneren Schichten entsprechend ihrer Reihenfolge und abschließend die Neuronen der Ausgabeschicht aktualisiert werden.

Ein mehrschichtiges Feedforward Netz mit fester Ein- und Ausgabeschicht wird als *Perceptron* bezeichnet [40]. Das bedeutet, dass diese Netzstruktur frei von Rückkopplungen ist. Der Eingabeschicht folgt mindestens eine versteckte Schicht, deren Gewichte trainierbar sind. Besitzt das Perceptron nur eine einzige versteckte Schicht, ist also nur eine Ebene vorhanden in der Gewichte angepasst werden können, so wird

das Perceptron auch als *Singlelayerperzeptron* bezeichnet. Besitzt das Perzeptron hingegen mehrere trainierbare Schichten, spricht man von einem *Multilayerperzeptron*.

Das rückgekoppelte Netz

Ist ein Neuron in einem ANN in der Lage sich direkt oder indirekt selbst zu beeinflussen, so spricht man von einem rückgekoppelten Netz. Eine Verbindung eines Neurons zu sich selbst wird dabei als direkte Rückkopplung bezeichnet. Von einer indirekten Rückkopplung spricht man, wenn Verbindungen in Richtung der Eingabeschicht gestattet sind. Verknüpfungen von Neuronen innerhalb derselben Schicht werden als laterale Rückkopplungen bezeichnet. Diese Netzarchitektur ist graphisch in Abb. 5.8 gezeigt. Die direkte Rückkopplung ist mit einer durchgezogenen Linie dargestellt, indirekte Rückkopplungen werden durch eine Strich-Punkt-Linie symbolisiert, während die lateralen Rückkopplungen durch eine breite gestrichelte Linie gekennzeichnet sind.

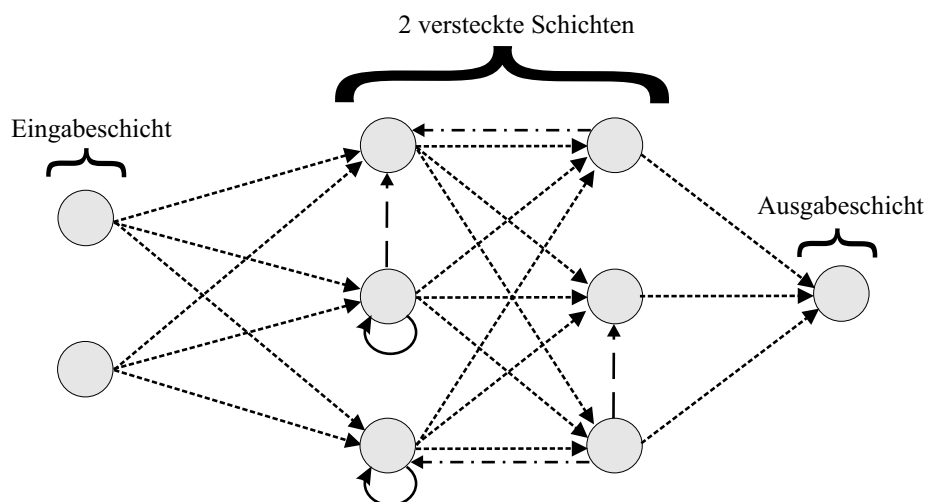


Abb. 5.8: Neuronales Netz mit Rückkopplungen.

Bei rückgekoppelten Netzen ist eine Aktualisierung gemäß der topologischen Ordnung, vgl. Abschnitt 5.5.2, nicht mehr möglich, da diese Netzwerke Zyklen enthalten. Statt dessen ist es weit verbreitet, eine feste Aktivierungsordnung festzulegen, mit Hilfe derer die einzelnen Neuronen aktiviert werden [40].

5.5.3 Das Training

Ein wichtiger Aspekt der Neuronalen Netze ist ihre Fähigkeit zur Generalisierung, also die Tatsache, dass sie nach ausreichendem Training in der Lage sind, unbekannte Probleme ähnlicher Struktur eigenständig zu lösen. Um diesem Anspruch gerecht

werden zu können, muss das verwendete Netz angelernt werden.

Dem ANN stehen verschiedene Möglichkeiten des Lernens zur Verfügung, die immer mit einer Änderung der internen Bestandteile des Netzes einhergehen [40]. Dabei soll das Lernen in dieser Arbeit ausschließlich über eine Änderung des jeweiligen Gewichts von statten gehen, wobei ein Gewicht, welches den Wert Null aufweist, auch mit dem Löschen einer internen Verbindung gleichgesetzt werden kann.

Die Lernverfahren, mit Hilfe derer die internen Verbindungsgewichte angepasst werden, lassen sich in drei Kategorien einteilen, das unüberwachte, das überwachte und das bestärkende Lernen. Obwohl im weiteren Verlauf der Arbeit ausschließlich das überwachte Lernen verwendet wird, werden aus Gründen der Vollständigkeit sämtliche Methoden kurz vorgestellt.

Das unüberwachte Lernen

Beim unüberwachten Lernen versucht das ANN selbst ähnliche Muster in den Datensätzen zu erkennen, ohne eine Rückmeldung über den Wahrheitsgehalt der Ergebnisse zu bekommen. Es steht lediglich das Eingabemuster, jedoch keine korrespondierenden Ausgabemuster zur Verfügung. Mit Hilfe geeigneter Lernstrategien versucht das Netz, die Eingabemuster anhand signifikanter Eigenschaften in Ähnlichkeitsklassen zu gruppieren und die zugehörigen Netzparameter entsprechend zu verändern. Gemäß dem biologischen Vorbild der ANN erscheint diese Methode als sinnvoll, ist aber aufgrund der eigenständigen Lösungsfindung für streng deterministische Problemstellungen nicht geeignet.

Das bestärkende Lernen

Ähnlich dem überwachten Lernen wird auch beim bestärkenden Lernen die Ausgabe des Netzes bewertet. Für ein vorgegebenes Eingabemuster erhält das Netz jedoch nur die Information, ob die Ausgabe richtig oder falsch ist. Dadurch lernt das ANN die Parameter so zu verändern, dass möglichst wenige Fehler begangen werden. Wird ein Großteil der Eingabemuster richtig klassifiziert ist das ANN hinreichend genau trainiert.

Das überwachte Lernen

Beim überwachten Lernen ist das grundlegende Verhalten des abzubildenden Systems und damit des ANNs bekannt. Zu jeder Menge an Eingabedaten existiert ein Datensatz, der die zu erwartende Ausgabe enthält. Der Vergleich zwischen dem durch das ANN ermittelten Resultat und dem gewünschten Ergebnis liefert einen Fehlervektor.

Dieser wird dem Netz zurückgegeben und die Verbindungsgewichte dann entsprechend angepasst. Bei dieser Trainingsmethode gibt es zwei Möglichkeiten dem ANN den Trainingsdatensatz zu präsentieren. Zum einen kann jede Datenmenge einzeln betrachtet werden, wobei nach jedem Trainingsbeispiel die Gewichte angepasst werden. Dieses Vorgehen wird als Online-Lernen bezeichnet. Zum anderen besteht die Möglichkeit dem Netz mehrere Trainingsdatensätze zur Verfügung zu stellen und den errechneten Fehler aufzusummieren. Bei dieser Methode spricht man vom Offline- oder Batch-Verfahren. Das Neuronale Netz lernt somit gleichzeitig mit Hilfe aller zur Verfügung gestellten Datensätze. Dabei ist es nicht sinnvoll alle verfügbaren Datensätze zu Trainingszwecken zu verwenden. Ein Teil der Datensätze sollte vielmehr zu Verifikationszwecken zurückgehalten werden, um die Qualität des trainierten Netzes zu testen. Liefert das Netz auch bei Eingabedaten, die nicht zum Lernen verwendet worden sind, zufriedenstellende Ergebnisse und zeigt so seine Fähigkeit zu Generalisieren, kann das Training beendet werden.

Die Lernregel *Backpropagation of Error*

Das am weitesten verbreitete Verfahren zum Training von Perzeptronen ist die Methode der *Backpropagation of Errors*, die 1986 in [13] und [14] veröffentlicht wurde [24]. Dieses Konzept basiert auf der Minimierung eines Fehlerterms $E(\mathbf{W})$ durch eine entsprechende Wahl der internen Gewichte $w_{i,j}$, die in der Matrix \mathbf{W} enthalten sind. Zunächst wird das Verfahren für ein einschichtiges Neuronales Netz mit einer linearen Aktivierungsfunktion der Steigung $m = 1$ hergeleitet. Anschließend erfolgt die Erweiterung auf ein Neuron mit mehreren Schichten.

Das Ziel des Trainings besteht darin, die Differenz zwischen dem vorgegebenen gewünschten Ausgabewert d , dem *Desired Output*, und dem tatsächlich vom Perzeptron generierten Ausgabewert \hat{y} zu minimieren. Der quadratische Ausgabefehler e errechnet sich dann zu

$$e^2 = (d - \hat{y})^2. \quad (5.64)$$

Besteht das betrachtete Singlelayerperzeptron aus mehreren Ausgabeneuronen, so ist der quadratische Ausgabefehler des j -ten Ausgabeneurons entsprechend als

$$e_j^2 = (d_j - \hat{y}_j)^2 \quad (5.65)$$

definiert. Jeder Ausgabewert \hat{y}_j hängt von den netzinternen Gewichten \underline{w}_j ab und somit gilt

$$\hat{y}_j = \hat{y}_j(\underline{w}_j) \quad (5.66)$$

$$e_j^2(\underline{w}_j) = (d_j - \hat{y}_j(\underline{w}_j))^2. \quad (5.67)$$

Der Vektor \underline{w}_j beinhaltet sämtliche Gewichte $w_{i,j}$ und lässt sich als

$$\underline{w}_j = \begin{bmatrix} w_{1,j} \\ \vdots \\ w_{N,j} \end{bmatrix} \quad (5.68)$$

darstellen. Das Gewicht $w_{i,j}$ repräsentiert dabei die Verbindung vom i -ten Eingabewert zum j -ten Ausgabeneuron. Im Falle von M Ausgabeneuronen und N Eingangssignalen können die Verbindungsgewichte des Singlelayerperzeptrons in einer Matrix zusammengefasst werden,

$$\mathbf{W} = \begin{bmatrix} w_{1,1} & \cdots & w_{1,M} \\ \vdots & w_{i,j} & \vdots \\ w_{N,1} & \cdots & w_{N,M} \end{bmatrix}. \quad (5.69)$$

Der gesamte Netzfehler E ergibt sich als Summe der Fehler e_j der einzelnen Ausgabeneuronen,

$$E(\mathbf{W}) = \sum_{j=1}^M e_j^2(\underline{w}_j) = \sum_{j=1}^M (d_j - \hat{y}_j(\underline{w}_j))^2. \quad (5.70)$$

Geht man im weiteren Verlauf davon aus, dass dem Neuronalen Netz K Trainingsdatensätze zur Verfügung stehen, so ergibt sich die vollständige Fehlerfunktion $E_K(\mathbf{W})$ als Summe der Fehlerfunktionen $E_k(\mathbf{W})$, $k = 1, \dots, K$ des jeweiligen Trainingsdatensatzes k ,

$$E_K(\mathbf{W}) = \sum_{k=1}^K E_k(\mathbf{W}) \quad (5.71)$$

$$= \sum_{k=1}^K \left(\sum_{j=1}^M (d_j - \hat{y}_{j,k}(\underline{w}_j))^2 \right), \quad (5.72)$$

wobei $\hat{y}_{j,k}$ den j -ten Ausgabewert bei Verwendung des k -ten Trainingsmusters bezeichnet.

Das Ziel des Trainings besteht darin, den Fehlerterm $E_K(\mathbf{W})$ zu minimieren. Der Fehlerterm verringert sich, indem die Gewichte angepasst werden und sich dadurch die Netzausgaben den gewünschten Zielwerten annähern. Die Realisierung erfolgt mit

Hilfe des Gradientenverfahrens. Die Änderung eines bestimmten Gewichts $w_{q,r}$ ergibt sich aus der Ableitung der Fehlerfunktion $E_K(\mathbf{W})$ nach diesem Gewicht,

$$\Delta w_{q,r} = -\eta \cdot \frac{\partial E_K(\mathbf{W})}{\partial w_{q,r}} \quad . \quad (5.73)$$

wobei η eine Proportionalitätskonstante, die sogenannte Lernrate symbolisiert. Die Lernrate ist ein Designparameter und kennzeichnet die Stärke der Gewichts Anpassung beim Lernen. Da sich die Fehlerfunktion gemäß Gleichung (5.71) aus der Summe der Fehlerfunktionen jedes einzelnen Trainingsbeispiels, $E_k(\mathbf{W})$ zusammensetzt, ergibt sich weiter

$$\Delta w_{q,r} = -\eta \cdot \frac{\partial E_K(\mathbf{W})}{\partial w_{q,r}} \quad (5.74)$$

$$= -\eta \cdot \sum_{k=1}^K \frac{\partial E_k(\mathbf{W})}{\partial w_{q,r}} \quad (5.75)$$

$$= -\eta \cdot \sum_{k=1}^K \left(\sum_{j=1}^M \frac{\partial (d_j - \hat{y}_{j,k}(\underline{w}_j))^2}{\partial w_{q,r}} \right) \quad . \quad (5.76)$$

Betrachtet man das Argument der Summen, so ergibt sich

$$\frac{\partial (d_j - \hat{y}_{j,k}(\underline{w}_j))^2}{\partial w_{q,r}} = -2 \cdot (d_j - \hat{y}_{j,k}(\underline{w}_j)) \cdot \frac{\partial \hat{y}_{j,k}(\underline{w}_j)}{\partial w_{q,r}} \quad (5.77)$$

$$= -2\delta_{j,k} \cdot \frac{\partial \hat{y}_{j,k}(\underline{w}_j)}{\partial w_{q,r}} \quad (5.78)$$

mit

$$\delta_{j,k} = d_j - \hat{y}_{j,k}(\underline{w}_j) = e_{j,k}(\underline{w}_j) \quad . \quad (5.79)$$

Die Gewichtsänderung des Gewichts $w_{q,r}$ bestimmt sich somit über

$$\Delta w_{q,r} = 2\eta \sum_{k=1}^K \left(\sum_{j=1}^M \delta_{j,k} \cdot \frac{\partial y_{j,k}(\underline{w}_j)}{\partial w_{q,r}} \right) \quad . \quad (5.80)$$

Aufgrund der linearen Aktivierungsfunktion gilt für den Ausgabewert des j -ten Neurons

$$\hat{y}_j = \sum_{i=1}^N p_i \cdot w_{i,j}, \quad (5.81)$$

wobei \underline{p} den Eingabevektor darstellt. Mit dieser Beziehung kann die Ableitung des Ausgabewertes nach dem Gewicht, $\partial \hat{y}_{j,k}(\underline{w}_j) / \partial w_{i,j}$, weiter vereinfacht werden und man erhält

$$\frac{\partial \hat{y}_{j,k}(\underline{w}_j)}{\partial w_{q,r}} = \frac{\partial \left(\sum_{i=1}^N p_i \cdot w_{i,j} \right)}{\partial w_{q,r}} = \begin{cases} p_i & \text{falls } q = i \text{ und } r = j \\ 0 & \text{sonst} \end{cases} \quad (5.82)$$

Setzt man dieses Resultat in Gleichung 5.80 ein, so erhält man für die Änderung des Gewichts $\Delta w_{q,r}$ bei nur einem zur Verfügung stehenden Datensatz, $K = 1$

$$\Delta w_{q,r} = 2\eta \delta_r \cdot p_q. \quad (5.83)$$

Die Änderung des Gewichts hängt somit von der Lernrate und denjenigen Ein- und Ausgabewerten ab, die eine direkte Verbindung mit dem Gewicht besitzen. Stehen mehrere Trainingsdatensätze zur Verfügung, $K > 1$, so wird für jeden der K zur Verfügung stehenden Trainingsdatensätze die Differenz $\delta_{k,j}$ zwischen realisiertem und gewünschtem Ausgabewert am zugehörigen Neuron j gebildet und anschließend aufsummiert. Für die Gewichtsänderung ergibt sich dann

$$\Delta w_{q,r} = 2\eta \sum_{k=1}^K \delta_{r,k} \cdot p_q = 2\eta p_q \sum_{k=1}^K \delta_{r,k}. \quad (5.84)$$

Diese Modifikationsregel wird auch *Delta-Regel* oder *Widrow-Hoff-Regel* genannt. Aufgrund des linearen Zusammenhangs sind die Neuronalen Netze, für die diese Modifikationsregel hergeleitet wurde, nur bedingt einsetzbar. Sie eignen sich für die Mustererkennung und für eine einfache Klassifizierung. Sollen jedoch nichtlineare Zusammenhänge zwischen den Ein- und Ausgabedaten der Trainingspaare realisiert werden sind dafür mehrschichtige Neuronale Netze, sogenannte MLP (*Multi-Layer-Perzeptronen*), besser geeignet [41].

Erweiterung der Lernregel *Backpropagation of Error* für ein MLP

Die im vorigen Abschnitt für ein Singlelayerperzeptron beschriebene Methode des *Backpropagation of Error* wird im Folgenden für das Training eines Multilayerperzeptron erweitert. Abbildung 5.9 zeigt ein Neuron j der Schicht r . An dieser Abbildung sollen die im Folgenden verwendeten Bezeichnungen veranschaulicht werden.

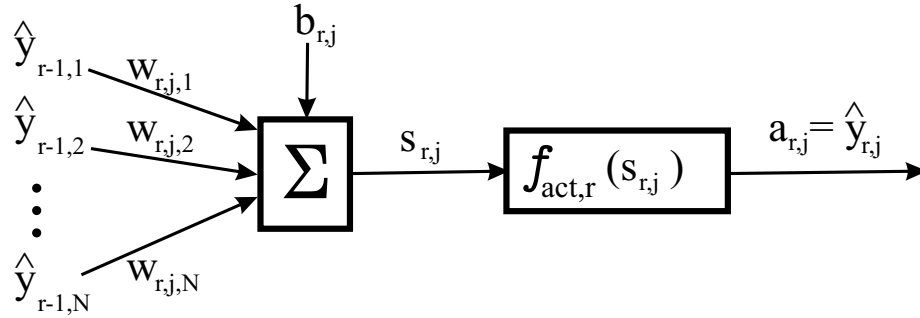


Abb. 5.9: Schematische Darstellung des Neurons j der Schicht r eines MLP.

Es gelten folgende Bezeichnungen:

- $\underline{\hat{y}}_{r-1}$: Ausgabewerte der N Neuronen der Schicht $r-1$;
- $w_{r,j,i}$: Gewicht der Eingabe $i, i = 1, \dots, N$ für das Neuron j der Schicht r ;
- $s_{r,j}$: Netzeingabewert des Neurons j der Schicht r ;
- $a_{r,j}$: Aktivierungszustand des Neurons j der Schicht r ;
- $b_{r,j}$: Schwellenwert des Neurons j der Schicht r ;
- $\hat{y}_{r,j}$: Ausgabewert des Neurons j der Schicht r .

Als Eingabevektor erhält dieses Neuron die Ausgabewerte $\underline{\hat{y}}_{r-1} = [\hat{y}_{r-1,1}, \dots, \hat{y}_{r-1,N}]^T$ aller N Neuronen der vorherigen Schicht $r-1$. Die Netzeingabe des Neurons berechnet sich aus der gewichteten Summe des Eingabevektors, $s_{r,j} = \underline{w}_{r,j}^T \cdot \underline{\hat{y}}_{r-1} + b_{r,j}$. Im Unterschied zum vorigen Abschnitt, als eine lineare Aktivierungsfunktion der Steigung $m = 1$ vorausgesetzt wurde, wird im Folgenden eine allgemeine Aktivierungsfunktion angesetzt. Bei der Ausgabefunktion handelt es sich wiederum um die Identität. Es gilt somit $\hat{y}_{r,j} = a_{r,j} = f_{act,r}(s_{r,j})$.

Die Änderung des Gewichts $w_{r,j,i}$ zwischen dem j -ten Neuron der r -ten Schicht und dem i -ten Neuron der Schicht $r-1$ berechnet sich analog zum vorigen Abschnitt aus der Ableitung der Fehlerfunktion nach dem Gewicht und der Lernrate η ,

$$\Delta w_{r,j,i} = -\eta \cdot \frac{\partial E}{\partial w_{r,j,i}}. \quad (5.85)$$

Die Ableitung der Fehlerfunktion nach dem Gewicht ergibt sich zu

$$\frac{\partial E(\mathbf{W})}{\partial w_{r,j,i}} = \frac{\partial E}{\partial s_{r,j}} \cdot \frac{\partial s_{r,j}}{\partial w_{r,j,i}} \quad (5.86)$$

$$= \frac{\partial E}{\partial s_{r,j}} \cdot \frac{\partial}{\partial w_{r,j,i}} \left(\underline{w}_{r,j}^T \cdot \hat{\underline{y}}_{r-1} + b_{r,j} \right). \quad (5.87)$$

Der zweite Teil dieser Gleichung vereinfacht sich zu

$$\frac{\partial}{\partial w_{r,j,i}} \left(\underline{w}_{r,j}^T \cdot \hat{\underline{y}}_{r-1} + b_{r,j} \right) = \hat{y}_{r-1,i}. \quad (5.88)$$

Definiert man weiterhin

$$\delta_{r,j} = \frac{\partial E}{\partial s_{r,j}} \quad (5.89)$$

ergibt sich für Gleichung 5.85

$$\Delta w_{r,j,i} = -\eta \cdot \delta_{r,j} \cdot \hat{y}_{r-1,i}, \quad (5.90)$$

und somit für die Gewichtsänderung sämtlicher Gewichte des j -ten Neurons der r -ten Schicht

$$\Delta \underline{w}_{r,j} = -\eta \cdot \delta_{r,j} \cdot \hat{\underline{y}}_{r-1}. \quad (5.91)$$

Um eine konkrete Berechnungsvorschrift für $\delta_{r,j}$ zu erhalten, wird mit Hilfe der Tatsache, dass der Ausgabewert des Neurons vom Aktivierungszustand abhängt, $\hat{y}_{r,j} = f_{act,r}(s_{r,j})$, Gleichung 5.89 umgeformt und man erhält

$$\begin{aligned} \delta_{r,j} &= \frac{\partial E}{\partial s_{r,j}} \\ &= \frac{\partial E}{\partial \hat{y}_{r,j}} \cdot \frac{\partial \hat{y}_{r,j}}{\partial s_{r,j}} \\ &= \frac{\partial E}{\partial \hat{y}_{r,j}} \cdot \frac{\partial f_{act,r}(s_{r,j})}{\partial s_{r,j}} \\ &= \frac{\partial E}{\partial \hat{y}_{r,j}} \cdot f'_{act,r}(s_{r,j}). \end{aligned} \quad (5.92)$$

Betrachtet man den lokalen Gradienten, $\underline{\delta}_r$, der gesamten Schicht r mit M Neuronen, so ergibt sich

$$\underline{\delta}_r = \frac{\partial E}{\partial \underline{s}_r} = \begin{bmatrix} \frac{\partial E}{\partial s_{r,1}} \\ \vdots \\ \frac{\partial E}{\partial s_{r,M}} \end{bmatrix} \quad (5.93)$$

und als Lernregel für die gesamte Schicht r schließlich

$$\Delta \mathbf{W}_r = -\eta \cdot \underline{\delta}_r \cdot \left(\hat{\underline{y}}_{r-1} \right)^T. \quad (5.94)$$

Die Bestimmung des lokalen Gradienten erfolgt ausgehend von der letzten Schicht k des Neuronalen Netzes. Anschließend können alle folgenden Gradienten bis hin zur ersten verdeckten Schicht rekursiv berechnet werden ($\delta_k \rightarrow \delta_{k-1} \rightarrow \dots \rightarrow \delta_2 \rightarrow \delta_1$). Unter der Voraussetzung, dass die Aktivierungsfunktion der Ausgabeneuronen eine lineare Funktion der Steigung $m = 1$ ist und der zu minimierende Fehlerterm der quadratische Fehler aus gewünschter und erzielter Netzausgabe ist, kann der Gradient der letzten Schicht k des Neuronalen Netzes mit Hilfe der im vorigen Abschnitt abgeleiteten Regel, Gleichung 5.79, angegeben werden,

$$\underline{\delta}_k = \underline{d} - \underline{\hat{y}}_k = \underline{e}_k. \quad (5.95)$$

Um den Gradienten der r -ten verdeckten Schicht zu erhalten, muss eine Abhängigkeit zwischen dem Fehlerterm und den Ausgabewerten der r -ten Schicht hergestellt werden, $E(\hat{\underline{y}}_r)$. Der Netzeingabewert eines Neurons j der Schicht r berechnet sich aus den Ausgabewerten der vorigen Schicht, $\hat{\underline{y}}_{r-1}$ und den zugehörigen Gewichten $\underline{w}_{r,j}$,

$$s_{r,j} = \underline{w}_{r,j}^T \cdot \hat{\underline{y}}_{r-1} + b_{r,j} = \sum_{i=1}^N w_{r,j,i} \cdot \hat{y}_{r-1,i} + b_{r,j}. \quad (5.96)$$

Die Netzeingabe dieses Neurons ist somit eine Funktion der Netzausgaben $\hat{\underline{y}}_{r-1}$

$$s_{r,j} = f(\hat{\underline{y}}_{r-1}). \quad (5.97)$$

Für ein Neuron l der folgenden Schicht $r+1$ ergibt sich

$$s_{r+1,l} = f(\hat{\underline{y}}_r). \quad (5.98)$$

Die Verknüpfung zwischen dem zu minimierenden Fehlerterm und dem Ausgabewert der r -ten Schicht ergibt sich damit zu

$$E(\underline{\hat{y}}_r) = E(\underline{s}_{r+1}(\underline{\hat{y}}_r)). \quad (5.99)$$

Mit Hilfe dieses Zusammenhangs lässt sich der erste Term der rechten Seite aus Gleichung 5.92 zu

$$\begin{aligned} \frac{\partial E}{\partial \hat{y}_{r,j}} &= \frac{\partial E(\underline{s}_{r+1}(\underline{\hat{y}}_r))}{\partial \hat{y}_{r,j}} \\ &= \sum_{l=1}^L \frac{\partial E}{\partial s_{r+1,l}} \cdot \frac{\partial s_{r+1,l}(\underline{\hat{y}}_r)}{\partial \hat{y}_{r,j}} \end{aligned} \quad (5.100)$$

umformen, wobei der Index L die Anzahl der Neuronen in der Schicht $r + 1$ angibt. Der erste Term dieser Gleichung entspricht gemäß Gleichung 5.89 $\delta_{r+1,l}$, dem Gradienten für das Neuron l der Schicht $r + 1$. Der zweite Term lässt sich mit Hilfe von Gleichung 5.96 berechnen und man erhält

$$\frac{\partial s_{r+1,l}(\underline{\hat{y}}_r)}{\partial \hat{y}_{r,j}} = \frac{\partial}{\partial \hat{y}_{r,j}} \left(\underline{w}_{r+1,l}^T \cdot \underline{\hat{y}}_r + b_{r+1,l} \right) = w_{r+1,l,j}. \quad (5.101)$$

Mit diesen Resultaten kann Gleichung 5.100 umgeschrieben werden

$$\frac{\partial E(\underline{s}_{r+1}(\underline{\hat{y}}_r))}{\partial \hat{y}_{r,j}} = \sum_{l=1}^L \delta_{r+1,l} \cdot w_{r+1,l,j}. \quad (5.102)$$

Einsetzen dieser Gleichung in Gleichung 5.92 liefert schließlich die gesuchte Rekursionsformel für $\delta_{r,j}$, den lokalen Gradienten des j -ten Neurons der Schicht r

$$\begin{aligned} \delta_{r,j} &= \left(\sum_{l=1}^L \delta_{r+1,l} \cdot w_{r+1,l,j} \right) f'_{act,r}(s_{r,j}) \\ &= (\underline{\delta}_{r+1}^T \cdot \underline{w}_{r+1,j}) \cdot f'_{act,r}(s_{r,j}). \end{aligned} \quad (5.103)$$

Definiert man zusätzlich die abgeleitete Aktivierungsmatrix als

$$\mathbf{S}'_r = \underline{f}'_{act,r}{}^T \cdot \mathbf{I}, \quad (5.104)$$

erhält man für die lokalen Gradienten der gesamten Schicht r

$$\underline{\delta}_r^T = (\underline{\delta}_{r+1}^T \cdot \mathbf{W}_{r+1}) \cdot \mathbf{S}'_r. \quad (5.105)$$

Mit diesen Resultaten ergibt sich für ein Gewicht eines MLP mit k Schichten die folgende Lernregel:

$$\begin{array}{rcl}
 w_{r,j,i}^{neu} & = & w_{r,j,i}^{alt} - \Delta w_{r,j,i} \\
 \Delta w_{r,j,i} & = & \eta \cdot \delta_{r,j} \cdot \hat{y}_{r-1,i} \\
 \text{mit} & & \\
 \delta_{k,j} & = & d_j - \hat{y}_j \\
 \delta_{r,j} & = & (\delta_{r+1}^T \cdot \underline{w}_{r+1,j}) \cdot f'_{act,r}(s_{r,j}) \quad \text{falls } r \neq k
 \end{array}$$

In der bisherigen Betrachtung wurde davon ausgegangen, dass dem Algorithmus nur ein Trainingsdatensatz präsentiert wird. Beim sogenannten *Batch* Training erfolgt die Gewichtsänderung jedoch erst, wenn dem Netz sämtliche Trainingsdatenpaare präsentiert wurden. Daher wird bei dieser Trainingsmethode die Differenz zwischen gewünschtem und realisiertem Ausgabewert am Ausgang des Netzes zuerst aufsummiert bevor die Gewichtsänderungen berechnet werden.

5.5.4 Das Radiale Basisfunktionennetz

Die von Poggio und Girosi veröffentlichten Radialen Basisfunktionennetze (RBF-Netze) [51] bilden eine weitere Klasse der Feedforward Netze. Bei diesem Netztyp handelt es sich um vollverknüpfte Feedforward Netze bestehend aus genau drei Schichten, einer Eingabe-, einer verdeckten und einer Ausgabeschicht, wobei nur die Verknüpfungen zwischen verdeckten Neuronen und Ausgabeschicht gewichtet werden. Der allgemeine Aufbau eines RBF-Netzes mit N Eingaben, R inneren Neuronen und Q Ausgaben ist in Abbildung 5.10 dargestellt.

Während bei den bereits vorgestellten MLP als Aktivierungsfunktion eine Schwellenwertfunktion gewählt wird, modelliert man die RBF-Netze mit einer zu einem Zentrum c radialsymmetrischen Funktion, welche eine allgemeine Gausskurve [58] der Form

$$y = a \cdot e^{-\frac{n^2}{2\sigma^2}} \quad (5.106)$$

sein kann, deren Breite durch σ gegeben ist. Für die Realisierung der Radialsymmetrie wird eine Abstandsnorm, üblicherweise die euklidische Norm mit dem Zentrum c und der Variablen x verwendet,

$$n = \|x - c\| = \sqrt{(x - c)^2}. \quad (5.107)$$

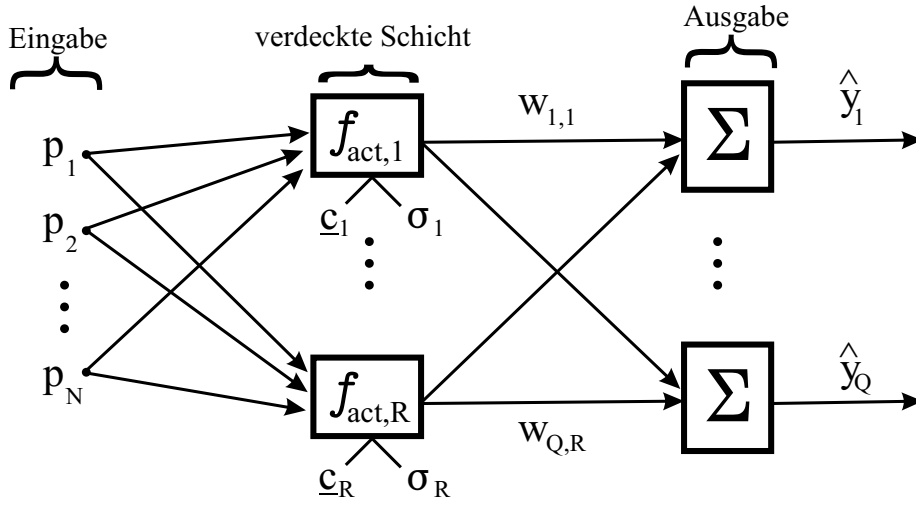


Abb. 5.10: Allgemeiner Aufbau eines RBF-Netzes.

Übertragen auf die Definition der Neuronalen Netze entspricht diese Abstandsnorm der Propagierungsfunktion des versteckten Neurons $r, r = 1, \dots, R$ und es gilt

$$f_{prop,r} = \|\underline{p} - \underline{c}_r\| = \sqrt{\sum_{i=1}^N (p_i - c_{r,i})^2}. \quad (5.108)$$

Dabei ist anzumerken, dass das Zentrum jedes Neurons der Dimension des Eingabevektors entspricht, $\underline{c}_r = [c_{r,1}, \dots, c_{r,N}]$. Für die Aktivierungsfunktion, die anhand des vorab berechneten Abstands den Aktivitätszustand des Neurons r berechnet, ergibt sich weiterhin

$$f_{act,r}(f_{prop,r}) = \exp\left(\frac{-f_{prop,r}^2}{2\sigma_r^2}\right) = \exp\left(-\frac{\sum_{i=1}^N (p_i - c_{r,i})^2}{2\sigma_r^2}\right). \quad (5.109)$$

Sämtliche resultierenden Aktivierungszustände der Neuronen werden schließlich in der Ausgabeschicht aufsummiert. Der Wert des Ausgabeneurons $q, q = 1, \dots, Q$ eines RBF-Netzes bestimmt sich dann als gewichtete Summe sämtlicher Aktivierungsfunktionen zu

$$\hat{y}_q = \sum_{r=1}^R w_{q,r} \cdot f_{act,r}(\|\underline{p} - \underline{c}_r\|). \quad (5.110)$$

Die einzelnen Gewichte können dabei als die Höhe der zugehörigen Gaußkurve interpretiert werden. Abbildung 5.11 zeigt beispielhaft das Resultat einer Zusammensetzung von vier, bei der Addition verschiedenartig gewichteter Gaußkurven mit jeweils unterschiedlichen Breiten und Zentren im zweidimensionalen Fall.

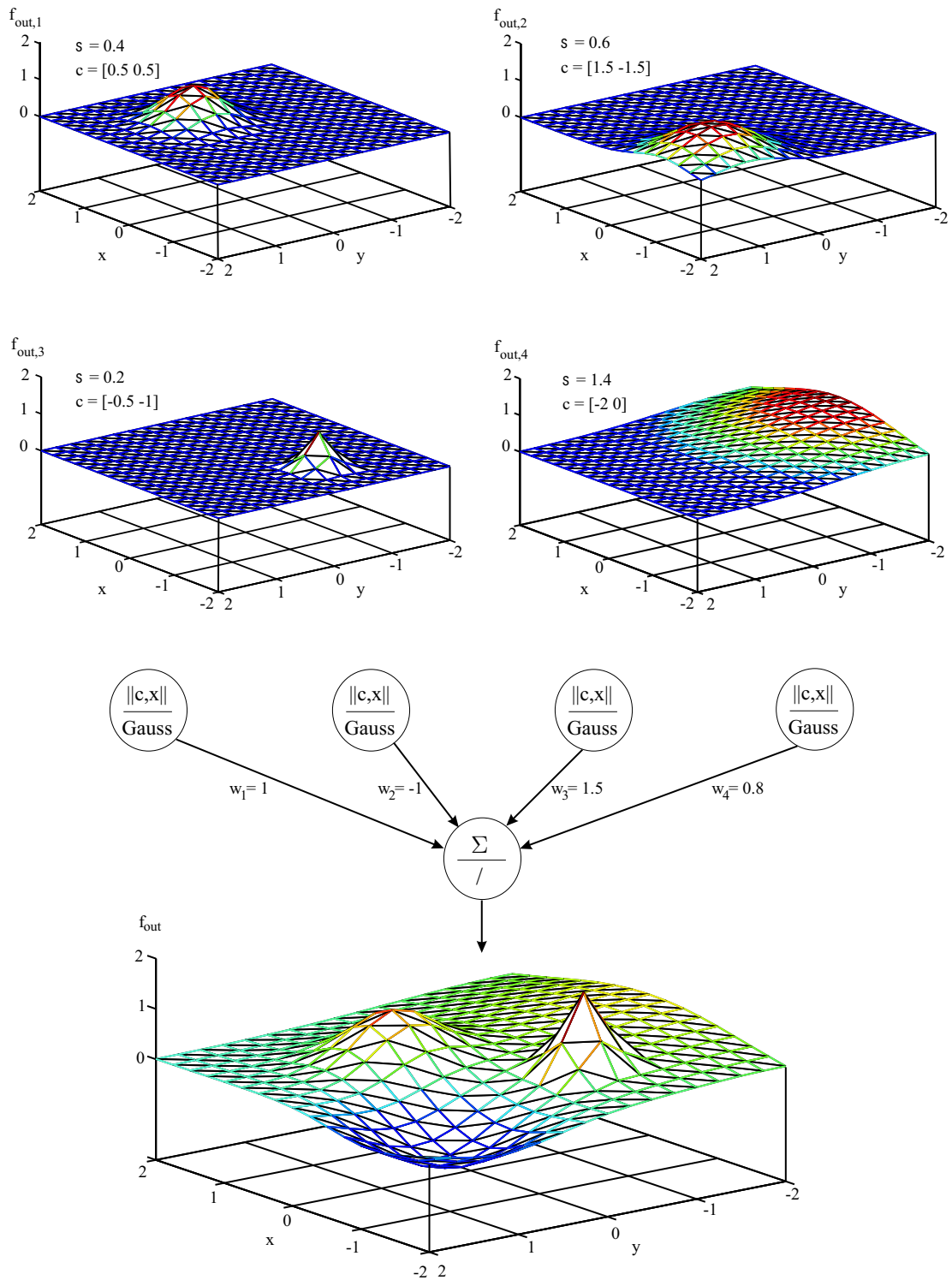


Abb. 5.11: Schematische Darstellung der Summe vierer unterschiedlicher Gaußskurven nach [40].

Als Designparameter stehen dem RBF-Netz das Zentrum c und die Breite σ der jeweiligen Glockenkurven sowie die Gewichte $w_{q,r}$, mit denen die Aktivierungszustände mit den Ausgabeneuronen verbunden sind, zur Verfügung.

Die Gewichte $w_{q,r}$ können durch Lösen eines linearen Gleichungssystems bestimmt werden. Da sich die Berechnungen jedoch oftmals als ungenau und sehr zeitaufwändig herausstellen, werden die Gewichte zusätzlich analog zum Training des Multi-Layer-Perceptrons mit der in Abschnitt 5.5.3 beschriebenen Delta-Regel durchgeführt [40]. Die Wahl Breiten und Zentren des Netzes kann auf unterschiedlichen Wegen erfolgen. Zum einen ist es möglich, diese Größen fest zu wählen und gleichmäßig über den gesamten Eingaberaum zu verteilen, so dass dieser vollständig abgedeckt ist und im kompletten Bereich eine gute Funktionsapproximation möglich ist. Zum anderen können aber auch Methoden der Mustererkennung, beispielsweise Clusteranalysen, verwendet werden, um die Zentren und Breiten der RBF-Neuronen basierend auf den Werten der vorhandenen Trainingsbeispiele auszurichten. Dabei wird der Eingaberaum unregelmäßig abgedeckt, wobei sich die RBF auf die Bereiche konzentrieren, in denen Daten gehäuft auftreten. Diese beiden Möglichkeiten sind in Abbildung 5.12 gegenübergestellt.

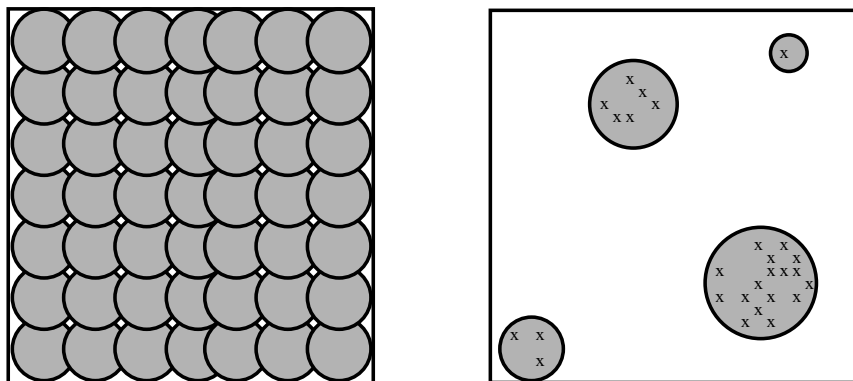


Abb. 5.12: Beispiele einer gleichmäßigen Abdeckung des Eingaberaums durch Radiale Basisfunktionen (links) und einer ungleichmäßigen Abdeckung, die mit Vorwissen generiert wurde (rechts) [40]. Die x -Markierungen symbolisieren dabei vorhandene Datenpunkte.

5.6 Einsatz der Neuronalen Netze im Fermentationsprozess

Um eine Aussage über die Qualität des auf Neuronalen Netzen basierenden Software-sensors treffen zu können, wird diese Methode bei unterschiedlichen Fermentationen zur Zustandsschätzung eingesetzt und das Schätzergebn anschließend analysiert. Wie bereits in den vorigen Versuchen stehen als Messwerte wiederum pH-Wert und Leitfähigkeit zur Verfügung, um die Konzentrationen der Zellen, des Substrats Laktose und des Produkts Laktat im Medium zu bestimmen.

5.6.1 Einsatz in einer Batchfermentation

Zuerst wird die Leistungsfähigkeit der Neuronalen Netze anhand des in Kapitel 3 beschriebenen Standardbatchversuchs untersucht, wobei es sich bei den eingesetzten ANN um Feedforwardnetze handelt. Messdaten vorangegangener Versuche dienen zum Training und zur Verifikation der entworfenen Netze, welche im Anschluss im realen Prozess eingesetzt werden. Bedingt durch den Prozessverlauf werden für jede zu schätzende Zustandsgröße zwei unterschiedliche Neuronale Netze zur Zustandsschätzung eingesetzt. Zu Beginn dient der pH-Wert als Eingangsgröße der ersten ANN. Da bei Erreichen eines vorgegebenen pH-Werts die Basenregelung einsetzt, um den pH-Wert auf einem konstanten Niveau zu halten, besitzt dieser Wert in der Folge keinen ausreichenden Informationsgehalt mehr, um weiterhin eine verlässliche Zustandsgrößenschätzung zu gewährleisten. Durch die Zudosierung der Base steigt jedoch die Leitfähigkeit im Medium kontinuierlich an und kann somit im weiteren Prozessverlauf als Eingangsgröße der jeweils zweiten ANN verwendet werden. Der Umschaltzeitpunkt t^* zwischen den beiden Netzen ist der Zeitpunkt, bei dem der pH-Wert erstmals den Wert $pH = 6.05$ erreicht.

Die Anfangsbedingungen der zu schätzenden Größen unterscheiden sich bei jedem Fermentationsprozess. Zudem variieren sowohl der pH-Wert zu Prozessbeginn als auch die Leitfähigkeit zum Zeitpunkt bei dem die pH-Regelung eingeschaltet wird, vgl. Kapitel 3. Daher muss der Ausgabevektor des Neuronalen Netzes basierend auf den Ausgangswerten des pH-Werts beziehungsweise der Leitfähigkeit und den dazugehörigen Prozesswerten normiert werden, um verlässliche Schätzergebnisse zu erhalten.

Es gilt also für die Schätzwerte $\hat{\underline{x}}(t)$ des Zustandsvektors zum Zeitpunkt t

$$\mathbf{T}_1(t) = \begin{bmatrix} T_{11}(t) & 0 & 0 \\ 0 & T_{12}(t) & 0 \\ 0 & 0 & T_{13}(t) \end{bmatrix} \quad (5.111)$$

$$\mathbf{\Lambda}_1 = \mathbf{T}_1(0)^{-1} \quad (5.112)$$

$$\hat{\underline{x}}(t) = \mathbf{\Lambda}_1 \cdot \mathbf{T}_1(t) \cdot \underline{x}_0, \quad t \leq t^* \quad (5.113)$$

$$\mathbf{T}_2(t) = \begin{bmatrix} T_{21}(t) & 0 & 0 \\ 0 & T_{22}(t) & 0 \\ 0 & 0 & T_{23}(t) \end{bmatrix} \quad (5.114)$$

$$\mathbf{\Lambda}_2 = \mathbf{T}_2(t^*)^{-1} \quad (5.115)$$

$$\hat{\underline{x}}(t) = \mathbf{\Lambda}_2 \cdot \mathbf{T}_2(t) \cdot \underline{x}(t^*), \quad t > t^*, \quad (5.116)$$

wobei $\mathbf{T}_1(t)$ und $\mathbf{T}_2(t)$ die Ausgabewerte der Neuronalen Netze bei Verwendung des pH-Werts beziehungsweise der Leitfähigkeit als entsprechendem Eingangswert angeben. $\mathbf{\Lambda}_{1,2}$ bezeichnet die entsprechenden Normierungsfaktoren, also die Inverse der Netzausgaben $\mathbf{T}_1(0)$ bzw. $\mathbf{T}_2(t^*)$. Die Anfangswerte \underline{x}_0 der zu schätzenden Daten orientieren sich an Erfahrungswerten aus früheren Fermentationen. Die beschriebene Vorgehensweise ist in Abb. 5.13 schematisch dargestellt.

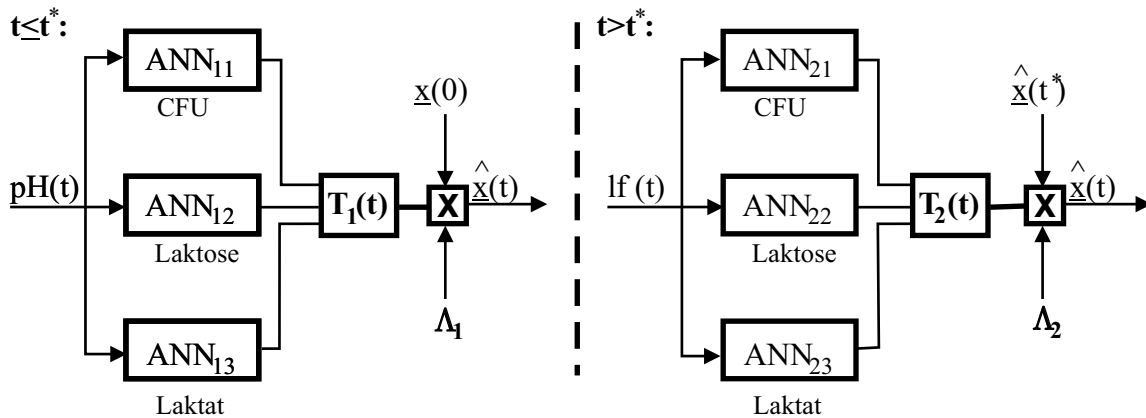


Abb. 5.13: Strukturelle Darstellung des Netzwerks zur Schätzung der Zustandsgrößen Keimzahl, Laktose und Laktat unter Zuhilfenahme Neuronaler Netze. Als Eingangsgrößen werden je nach Prozesszustand entweder der pH-Wert, $pH(t)$, oder die Leitfähigkeit, $lf(t)$, verwendet.

Die Ergebnisse einer Zustandsschätzung, welche mit obiger Netzstruktur erzielt wurde, sind in Abb. 5.14 und 5.15 zu sehen.

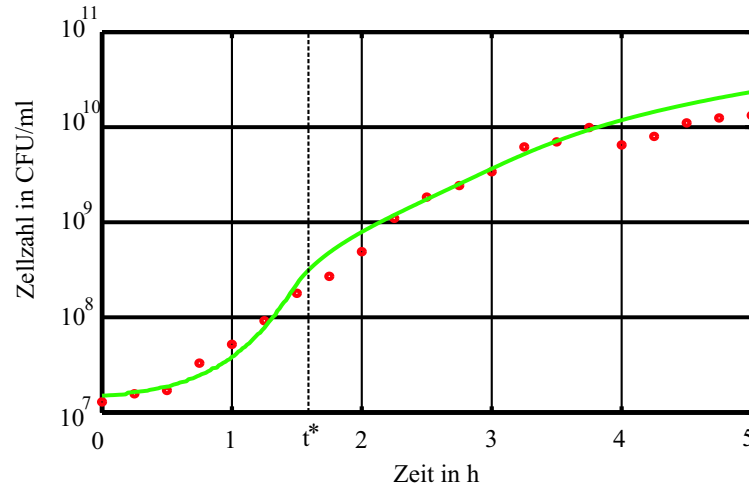


Abb. 5.14: Ergebnisse der Schätzung von Keimzahl unter Verwendung künstlicher Neuronaler Netze.
 o Messungen; – Schätzung

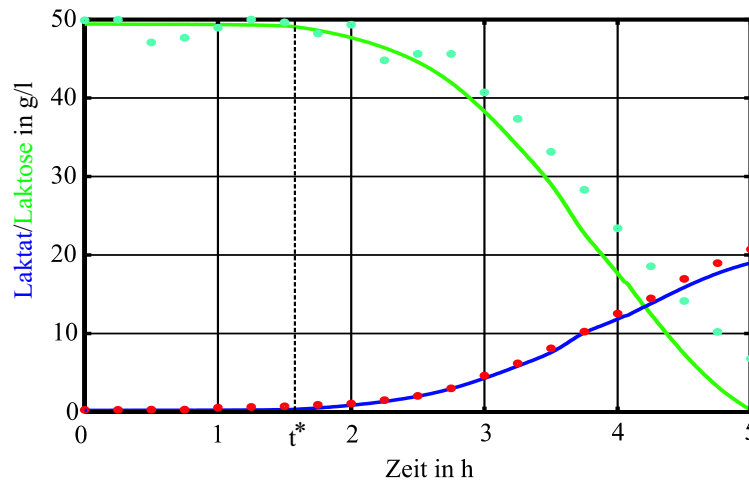


Abb. 5.15: Ergebnisse der Schätzung von Laktose und Laktat unter Verwendung künstlicher Neuronaler Netze.
 o Messungen; – Schätzungen.

Das Training der verwendeten Netze wurde mit dem *Backpropagation Algorithmus* im Batchtraining durchgeführt. Dazu standen zwei vollständige Datensätze aus früheren Fermentationen zur Verfügung. Da die Zustandsschätzung a posteriori, also

erst nach Ende der Fermentation durchgeführt wurde, konnte auch auf die exakten Anfangswerte zurückgegriffen werden. Die eingesetzten Feedforwardnetze bestehen jeweils aus zwei verdeckten Schichten mit je zwanzig Neuronen und einer sigmoiden Aktivierungsfunktion. Als Lernrate wurde $\eta = 0,7$ gewählt.

Die Darstellung zeigt deutlich, dass Mess- und Schätzwerte qualitativ übereinstimmen. Besonders die Werte für die Konzentration des Produkts Laktat werden sehr gut reproduziert. Dieses Ergebnis lässt sich dadurch erklären, dass das produzierte Laktat für das Absinken des pH-Werts verantwortlich ist. Im weiteren Prozessverlauf für $t > t^*$ wird der pH-Wert durch die Zugabe von Base konstant gehalten. Dadurch steigt die Leitfähigkeit an und somit besteht ein direkter Zusammenhang zwischen Messgröße und Laktatkonzentration. Neben dem Laktat werden jedoch auch die Größen Keimzahl und Laktose qualitativ gut geschätzt. Die Resultate zeigen deutlich, dass ein Neuronales Netz in der Lage ist, den Verlauf wichtiger Zustandsgrößen im Fermentationsprozess basierend auf online verfügbaren Messwerten gut wiederzugeben. Voraussetzung ist allerdings, dass sich das Verhalten des aktuellen Prozesses nur geringfügig vom Verhalten der vorherigen Prozesse unterscheidet.

5.6.2 Erweiterung des Konzepts zur Verbesserung der quantitativen Schätzergebnisse

Im vorigen Abschnitt wurde gezeigt, dass die Methode der *Neuronalen Netze* sehr gut geeignet ist, um das qualitative Verhalten der drei Prozessgrößen Keimzahl, Laktose- und Laktat während des Fermentationsprozesses anhand der Verläufe von pH-Wert respektive Leitfähigkeit wiederzugeben. Um jedoch auch quantitativ zuverlässige Resultate garantieren zu können, muss dieses Konzept der Zustandsschätzung erweitert werden, damit die Resultate nicht nur zur Prozessüberwachung, sondern auch weiterführend für eine Prozessführung verwendet werden können.

Sensitivität der Schätzergebnisse gegenüber den Anfangswerten

Wie bereits im vorigen Abschnitt erwähnt, wird zur Ermittlung des aktuellen Schätzwerts der Startwert des entsprechenden Zustands mit einbezogen. Da dieser jedoch nicht a priori zur Verfügung steht, muss er aus vorhergehenden Versuchen abgeschätzt werden. Das kann über die Mittelwertbildung aller Startwerte der bisherigen Versuche erfolgen. Allerdings gibt dieses Ergebnis keinen Aufschluss über den tatsächlichen Anfangswert. Ein fehlerhafter Startwert wirkt sich dabei direkt auf das Schätzergebnis aus. Abbildung 5.16 verdeutlicht diesen Effekt. Dabei ist offensichtlich, dass sich die quantitativen Resultate deutlich unterscheiden und eine genaue Schätzung des Startwerts der Keimzahl für eine genaue Zustandsschätzung essentiell ist.

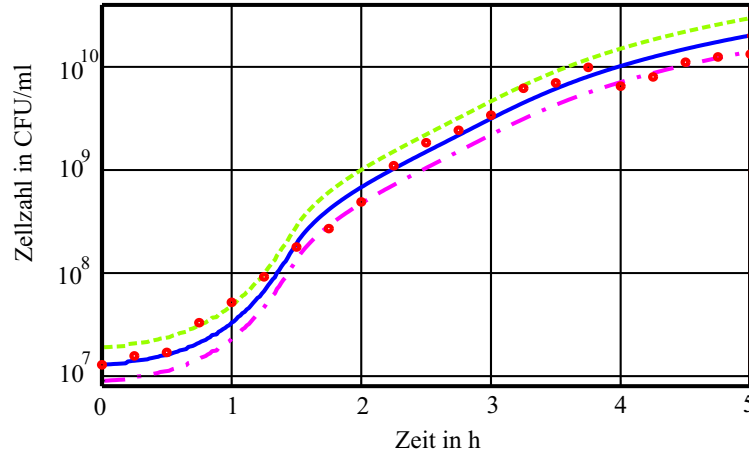


Abb. 5.16: Schätzergebnisse der Keimzahl mit drei unterschiedlichen Anfangswerten, $c_x(0)_1 = 1.3 \cdot 10^7$, $c_x(0)_2 = 1.9 \cdot 10^7$ und $c_x(0)_3 = 9 \cdot 10^6$, jeweils in CFU/ml;
 o Messungen; – Schätzungen.

Kopplung des Neuronalen Netzes mit der Methode des FHE

Um die Auswirkungen einer fehlerhaften Annahme des Anfangswerts der Keimzahl auf die quantitativen Schätzergebnisse zu minimieren, wird das Neuronale Netz, welches zur Bestimmung der Keimzahl verwendet wird, um die Methode des *Full-Horizon-Observers* erweitert. Dazu wird während den ersten 50 Minuten der Fermentation mit Hilfe des in Kapitel 4.1 entwickelten Modells das bereits in Abschnitt 5.3.3 eingeführte Gütefunktional

$$J(\underline{w}_0, \dots, \underline{w}_{k-1}) = \underline{w}_0^T \mathbf{P}_{1|0}^{-1} \underline{w}_0 + \sum_{l=1}^{k-1} \underline{w}_l^T \mathbf{Q}^{-1} \underline{w}_l + \sum_{l=1}^k \underline{v}_l^T \mathbf{R}^{-1} \underline{v}_l \quad (5.117)$$

$$[\underline{w}_0, \dots, \underline{w}_{k-1}] = \arg \min_{\underline{w}_0, \dots, \underline{w}_{k-1}} J \quad .$$

unter den Nebenbedingungen

$$\underline{v}_l = \underline{y}_l - \underline{h}(\underline{x}_l) \quad (5.118)$$

$$\underline{x}_l = \underline{f}(\underline{x}_{l-1}, \underline{u}_{l-1}) + \underline{w}_{l-1} \quad (5.119)$$

$$\hat{\underline{x}}_0 = \underline{x}_0 + \underline{w}_0 \quad . \quad (5.120)$$

minimiert und somit der Startwert \hat{x}_0 der Keimzahl ermittelt, für den der Verlauf des gemessenen pH-Werts im Zeitintervall $[t_0, \dots, t_k]$ am ehesten zutrifft.

Die Anfangswerte der Konzentrationen Laktat und Laktose können a priori bestimmt

werden, indem dem Fermenter vor der Inokulation eine Probe entnommen und analysiert wird. Diese stehen somit zu Prozessbeginn zur Verfügung. Mit Hilfe dieser Werte und den für diese beiden Zustandsgrößen trainierten Neuronalen Netze, können die Substrat- und Produktkonzentration im Medium direkt online bestimmt werden und stehen für die Optimierung als zuverlässige Werte zur Verfügung. Die Konzentration des Produkts Laktat kann weiterhin auch über eine direkte Korrelation mit dem pH-Wert erfolgen, die in Abschnitt 5.4.1 vorgestellt wurde.

Die schematische Vorgehensweise dieser modifizierten Schätzmethode ist in Abbildung 5.17 graphisch illustriert.

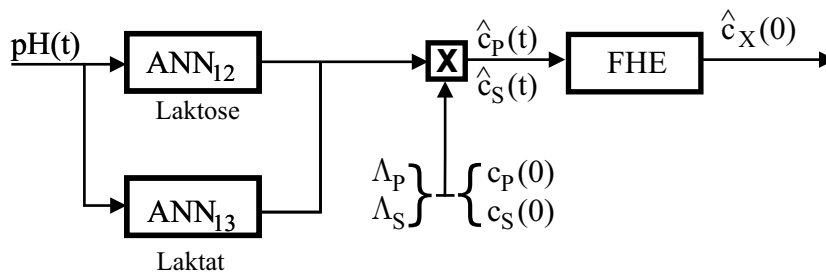


Abb. 5.17: Strukturelle Darstellung der Vorgehensweise zur Schätzung des Anfangswerts der Keimzahl.

Es gelten folgende Bezeichnungen:

$c_{i,i=P,S,X}$ - Laktat-, Laktosekonzentration und Keimzahl;

$\Lambda_{i,i=P,S}$ - Normierungsfaktoren zur Bestimmung der Laktat-, Laktosekonzentration.

Der charakteristische Parametersatz des Simulationsmodells wird mit Hilfe der in Kapitel 4.1 beschriebenen Identifikationsmethode so angepasst, dass das resultierende Teilmodell nur die ersten 50 Minuten des Prozessverlaufs beschreibt. Da ein Teilmodell besser zu identifizieren ist, wird der Prozessverlauf in den ersten 50 Minuten damit besser beschrieben, als das mit dem Parametersatz der Fall ist, der für den kompletten, mehrstündigen Prozess ermittelt wurde.

Die Anwendung dieser erweiterten Methode führt zu deutlich verbesserten Schätzergebnissen. Abbildung 5.19 zeigt an einem realen Prozess, wie sich der geschätzte Anfangswert mit zunehmender Prozesszeit dem nach Fermentationsende ermittelten Startwert der Keimzahl annähert. Da sich die Schätzung für die Ausgangskonzentration der Bakterien im Fermentationsmedium im Verlauf des Fermentationsprozesses dem a posteriori ermittelten, realen Messwert immer mehr annähert, ergibt sich für die quantitative Schätzung der Keimzahl ein deutlich verbessertes Schätzergebnis, welches in Abbildung 5.20 dargestellt ist. In dieser Abbildung kann man sehr gut erkennen, wie sich zu Beginn der Fermentation der Schätzwert bei jedem Eintreffen eines neuen Anfangswertes sprunghaft ändert. Im weiteren Prozessverlauf zeigt die Zustandsgrößenschätzung, bei der der Startwert während dem Fermentationsprozess mehrmals angepasst wurde eine quantitativ deutlich bessere Übereinstimmung mit

den gemessenen Werten, als die Schätzung, bei der ein konstanter, vor Prozessbeginn festgelegter Startwert, verwendet wurde. Parallel werden, wie im vorigen Abschnitt beschrieben, sowohl die Konzentrationen für das Substrat als auch diejenigen für das Produkt geschätzt. Die in Abbildung 5.18 präsentierten Schätzergebnisse zeigen wiederum eine gute Übereinstimmung mit den im Anschluss an die Fermentation offline ermittelten Werten.

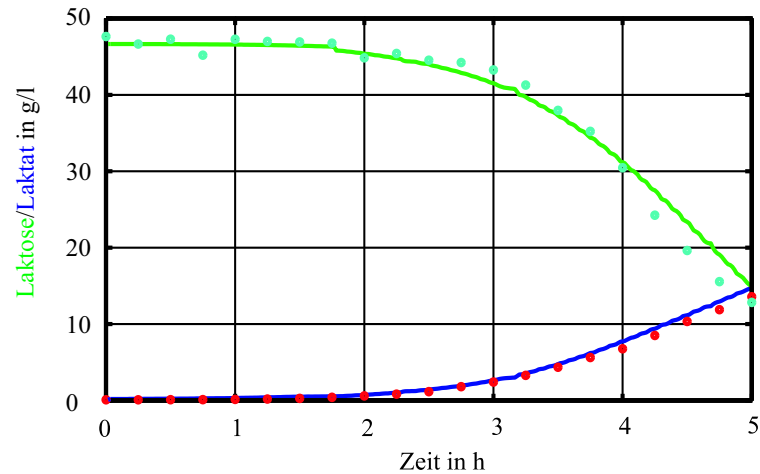


Abb. 5.18: Schätzergebnisse für das Substrat Laktose und das Produkt Laktat.

o: Messungen; -: Schätzungen

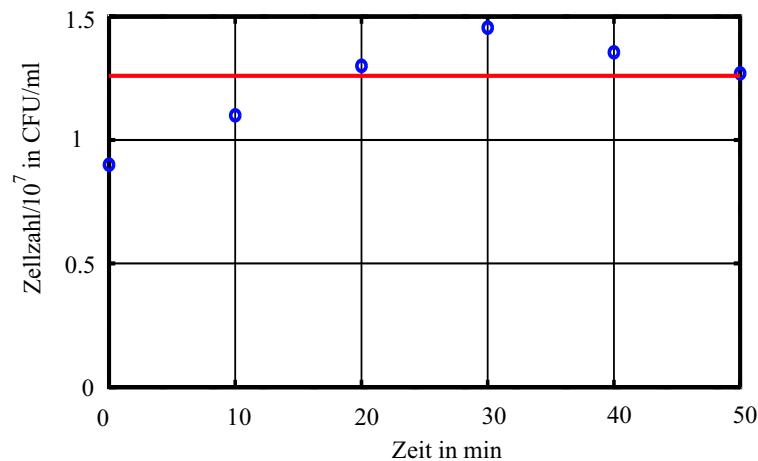


Abb. 5.19: Resultate der Anfangswertschätzung zu Prozessbeginn;

-: a posteriori gemessener Anfangswert $c_{x0,real}$

o: online geschätzter Anfangswert $c_{x0,schaetz}$.

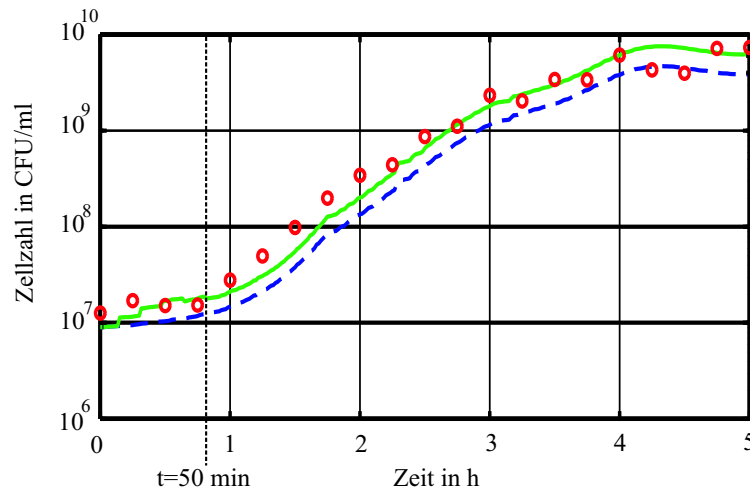


Abb. 5.20: Schätzergebnisse der Zellzahl bei einer Schätzung mit angepasstem und von Beginn an konstantem Anfangswert.
 ○: a posteriori gemessene Zellzahl;
 —: Schätzung der Zellzahl bei mittels FHE in zehnminütigem Intervall angepassten Anfangswert, ab $t = 50$ min bleibt dieser Wert konstant;
 - -: Schätzung der Zellzahl bei vor Fermentationsbeginn festgelegtem, nicht veränderbarem Anfangswert.

5.6.3 Anwendung in einer Fedbatch-Fermentation

Die bisherigen Resultate zeigen, dass die Kombination aus Full-Horizon-Observer und Neuronalen Netzen in einer Batch-Fermentation sehr gute Schätzergebnisse liefert. Da in zukünftigen Anwendungen auch unterschiedliche Zufütterstrategien realisiert werden sollen, bei denen das Substrat Laktose über ein Pumpen-Waage-System zugegeben wird, muss das Neuronale Netz zur Bestimmung der Laktosekonzentration im Medium an die geänderte Situation angepasst werden. Als zusätzliche Eingangsgröße steht dabei die Pumprate zur Verfügung, die die Menge an Laktose pro Minute angibt, die dem System zugeführt wird.

Dazu wird ein Fedbatch-Versuch durchgeführt, der an den in Kapitel 3 beschriebenen Versuch angelehnt ist. Der einzige Unterschied zwischen dem durchgeführten Fedbatch-Versuch und dem beschriebenen Batchversuch liegt in der Vorlage der Substratkonzentration. Im Batchversuch ist die gesamte während des Fermentationsprozesses zur Verfügung stehende Laktose bereits zu Prozessbeginn im Medium enthalten. Im Fedbatch-Versuch wird die Laktose erst während des Prozesses zugefüttert. Daher ist die Startkonzentration der Laktose deutlich geringer und beträgt im betrachteten Versuch etwa 14g/l. Dieser Wert erklärt sich durch das komplexe

Nährmedium. Bereits ohne explizite Zugabe von Laktose ist schon zu Beginn eine entsprechende Substratkonzentration im Medium enthalten. Im Verlauf der Fermentation wird dem Prozess dann gemäß dem Profil aus Abbildung 5.21 Laktose zugeführt. Ziel dieser Zufütterung ist es, die Laktosekonzentration über einen längeren Zeitraum hinweg auf einem konstant niedrigen Niveau zu halten um die Aktivität der Bakterien während der Fermentation zu erhöhen. Eine detailliertere Beschreibung der zugrunde liegenden Hypothese findet sich im nächsten Kapitel, in dem die Resultate einer Substratregelung vorgestellt werden.

Aufgrund der Zufütterung ist es nicht mehr möglich, die Konzentration der Laktose weiterhin mit demselben Neuronalen Netz zu schätzen, welches in der Batch-Fermentation verwendet wurde. Das liegt daran, dass die Konzentration der Laktose durch die Zugabe von Substrat beeinflusst wird, sich diese zusätzliche Information jedoch nicht in einer Änderung des pH-Werts beziehungsweise der Leitfähigkeit niederschlägt. Deshalb wird in [41] ein neues Neuronales Netz zur Bestimmung der Laktosekonzentration erstellt, dem zwei Eingangsgrößen, die Zufüttertrate und, je nach Fortschritt des Prozesses, entweder pH-Wert oder Leitfähigkeit zur Verfügung stehen. Die mit diesem Netz erhaltenen Schätzergebnisse sind in Abbildung 5.22 zu sehen.

Offensichtlich ist die Qualität des Schätzergebnisses nur zu Prozessbeginn zufriedenstellend. Sobald die Zufütterung einsetzt, stimmen die Schätzwerte sowohl in quantitativer als auch in qualitativer Hinsicht nicht mehr mit den offline ermittelten Messwerten überein und werden sogar teilweise negativ. Somit sind die Schätzergebnisse für eine Prozessführung ungeeignet.

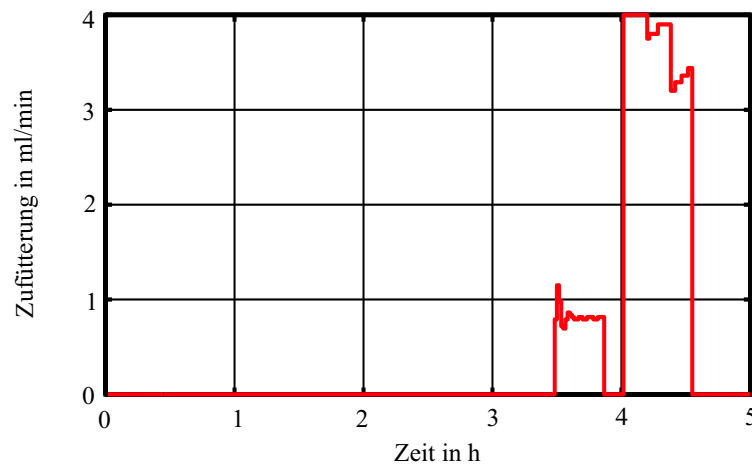


Abb. 5.21: Zufütterprofil des Substrats Laktose.

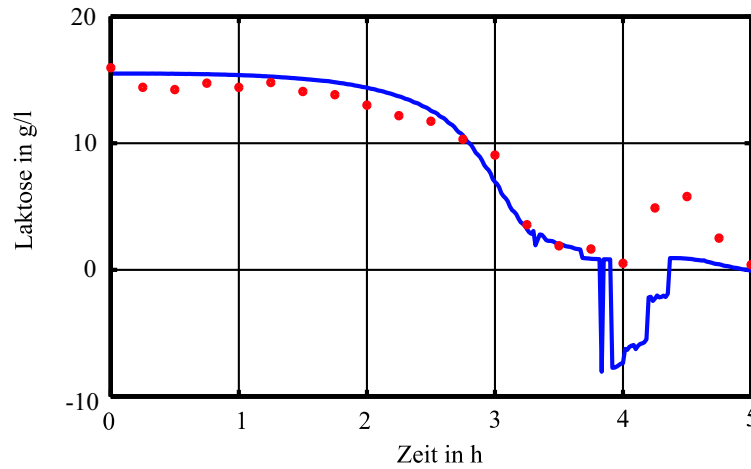


Abb. 5.22: Schätzergebnis der Laktosekonzentration bei einer Fed-Batch-Fermentation unter Verwendung eines Neuronalen Netzes mit den Inputgrößen Zufüterraten, pH-Wert und Leitfähigkeit.

•: a posteriori gemessene Substratkonzentration;

—: Schätzung der Substratkonzentration mit einem Feed-forwardnetz.

Um dieser Unzulänglichkeit entgegenzuwirken, wird die Laktose nur bis zum Einsetzen der Zufütterung mit einem gewöhnlichen Neuronalen Netz geschätzt. Im weiteren Prozessverlauf wird zur Bestimmung der Konzentration dann das einfache Prozessmodell aus Kapitel 4.3.2 herangezogen. Mit Hilfe der aktuellen Schätzwerte für Keimzahl, Laktose und Laktat kann die Änderung der Konzentration des Substrats $\dot{c}_S[t, t + \Delta t]$ im Zeitintervall $[t, t + \Delta t]$ durch Gleichung (5.121) approximiert werden. Damit lässt sich der aktuelle Schätzwert der Laktose zum Zeitpunkt $t + \Delta t$ über Gleichung (5.122) näherungsweise berechnen,

$$\dot{c}_S[t, t + \Delta t] \approx -Y_S^* \cdot \mu_{max} \cdot \frac{c_S(t)}{K_S + c_S(t)} \cdot \frac{K_P}{K_P + c_P(t)} \cdot c_X(t) + u \cdot \frac{D}{V} \quad (5.121)$$

$$c_S(t + \Delta t) \approx c_S(t) + \dot{c}_S[t, t + \Delta t] \cdot \Delta t. \quad (5.122)$$

Die Variable D gibt dabei die Konzentration von Laktose in der Zufütterung an, V bezeichnet das Fermentervolumen und u ist die Menge an Substratlösung, die während einer Zeiteinheit dem Prozess zugefüttert wird. Diese variiert in den hier gezeigten Versuchen zwischen 0 und 6 ml/min.

Die Anwendung dieser kombinierten Methode führt zu einer deutlich verbesserten Zustandsschätzung. Das Resultat ist in Abbildung 5.25 zu sehen. Die Schätzergebnisse zeigen eine gute Übereinstimmung mit den gemessenen Werten. Die vorge-

stellte Methodik kann daher zur Schätzung der Laktosekonzentration bei Fedbatch-Fermentationen eingesetzt werden.

Trotz der geänderten Fermentationsbedingungen können für die Schätzung von Keimzahl und Laktat im Gegensatz zum Substrat Laktose dieselben Netze, die bei einem herkömmlichen Batchversuch verwendet werden, unverändert übernommen werden. Beide Zustandsgrößen korrelieren weiterhin direkt mit dem pH-Wert respektive der Leitfähigkeit. Die entsprechenden Schätzergebnisse sind in den Abbildungen 5.23 und 5.24 dargestellt. Es ist zu erkennen, dass die mit Hilfe der Neuronalen Netze geschätzten Zustände weiterhin gut mit den gemessenen Werten übereinstimmen.

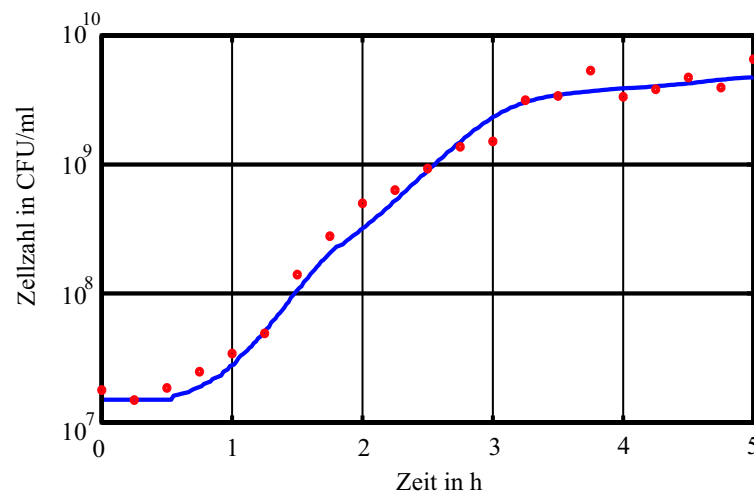


Abb. 5.23: Resultate der Keimzahlschätzung mit Hilfe Neuronaler Netze bei einem Fedbatch-Prozess.
o: Messungen; —: Schätzungen

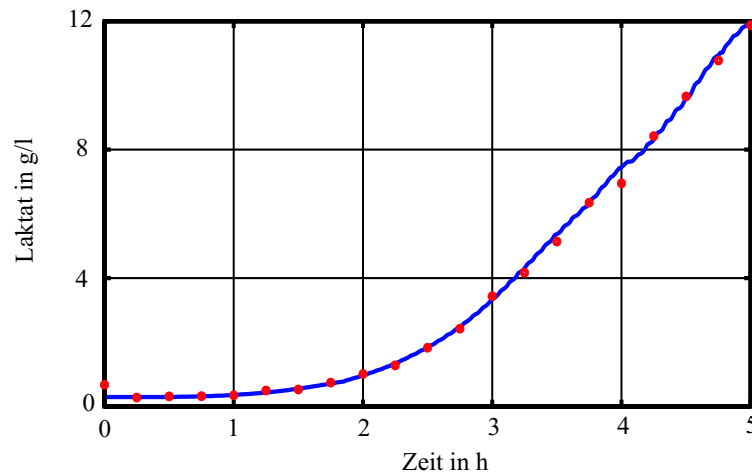


Abb. 5.24: Resultate der Schätzung von Laktat mit Hilfe Neuronaler Netze bei einem Fedbatch-Prozess.

o: Messungen; —: Schätzungen

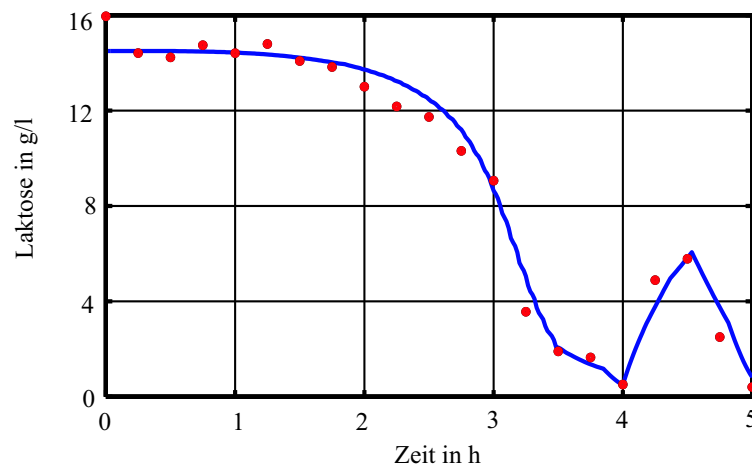


Abb. 5.25: Resultate der Schätzung der Konzentration von Laktose bei einem Fedbatch-Prozess mit Hilfe Neuronaler Netze und eines Prozessmodells.

o: Messungen; —: Schätzung

5.6.4 Bestimmung prozessspezifischer Kenngrößen

Neben der Schätzung interner Zustandsgrößen ist die Bestimmung weiterer prozessspezifischer Kenngrößen während der Fermentation von besonderem Interesse. Insbesondere der Zeitpunkt maximaler Aktivität der Bakterien ist für die Qualität des Endprodukts von großer Bedeutung. Im optimalen Fall stellt dieser Zeitpunkt den Erntezeitpunkt der Fermentation dar. Ein Weiterführen der Fermentation über diesen Zeitpunkt hinaus führt unweigerlich zu Qualitätseinbußen [50]. Mit den bishe-

rigen Produktionsverfahren ist es jedoch nicht möglich, den Erntezeitpunkt exakt zu detektieren. Vielmehr kann der Zeitpunkt maximaler Aktivität erst bestimmt werden, wenn dieser bereits überschritten ist. Aus diesem Grund ist es von großem Interesse, den entsprechenden Prozessparameter online zu bestimmen.

Als entscheidendes Kriterium dient dazu der Verlauf der Basenverbrauchskurve, der eine Aussage über die Aktivität der Bakterien liefert. Da zum Zeitpunkt maximaler Aktivität die Laktatproduktion am größten ist, muss in diesem Zeitbereich am meisten Base pro Zeit zugegeben werden, um den pH-Wert auf einem konstanten Niveau zu halten. Aus mathematischer Sicht entspricht dieser Zeitpunkt dem Wendepunkt der Basenverbrauchskurve. Mit Hilfe eines ANN soll der Wendepunkt dieser Kurve online bestimmt werden. Dazu wird ein Neuronales Netz verwendet, das basierend auf dem aktuellen Wert der Basenverbrauchskurve deren zweite Ableitung schätzt. Der Nulldurchgang der Ableitung charakterisiert den Wendepunkt, der damit exakt bestimmt werden kann. Das Resultat einer Online-Schätzung bei einer Batch-Fermentation ist in Abb. 5.26 zu sehen.

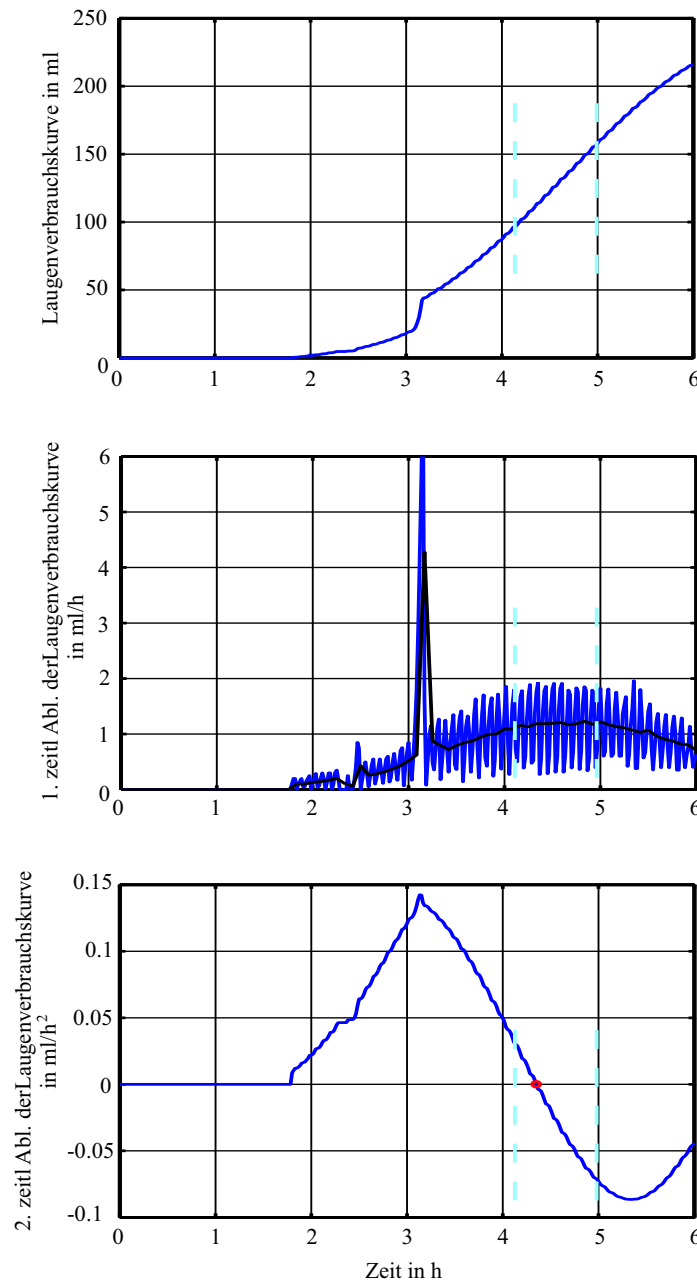


Abb. 5.26: Gemessene Laugenverbrauchskurve und Ergebnis der online geschätzten zweiten Ableitung der Basenkurve zur Bestimmung des Wendepunktes. Der geschätzte Zeitpunkt bei dem die Biomasse ihre maximale Aktivität besitzt (Wendepunkt der Basenverbrauchskurve) ist mit ● gekennzeichnet. Der Bereich in dem der Wendepunkt der Basenverbrauchskurve tatsächlich liegt, ist mit || markiert.

Dabei kann man erkennen, dass die Wendepunktschätzung während des laufenden Prozesses prinzipiell möglich ist und ein gutes Resultat liefert. Dadurch lässt sich für den Anwender der Prozess visuell besser kontrollieren und das Eintreffen des Zeitpunktes der maximalen Aktivität im Vorfeld abschätzen. Dadurch kann das Produkt zum bestmöglichen Zeitpunkt geerntet werden.

Prädiktive Bestimmung des Wendepunkts

Der Fermentationsprozess lässt sich noch weiter verbessern, indem schon zu einem frühen Prozesszeitpunkt der Zeitpunkt der maximalen Aktivität bekannt ist, also der Wendepunkt der Basenverbrauchskurve bereits in einem frühen Prozessstadium prädiziert werden kann. Dann könnte bereits frühzeitig eine Kühlstrategie eingeleitet werden, die zu dem gewünschten Endprodukt führt.

Das Eintreffen des gesuchten Zeitpunkts hängt direkt mit der Qualität des verwendeten Impfers zusammen, die von Fermentation zu Fermentation variiert. Ein qualitativ hochwertiger Impfer ist bereits bei der Inokulation sehr aktiv, wächst schneller und produziert dadurch innerhalb einer definierten Zeitspanne mehr Laktat als ein qualitativ schlechterer Impfer. Das bedeutet weiterhin, dass der pH-Wertverlauf steiler abfällt und die pH-Regelung früher einsetzt. In Folge dessen tritt auch der Wendepunkt der Basenverbrauchskurve und somit der Zeitpunkt maximaler Aktivität zu einem früheren Zeitpunkt ein.

Aus diesem Grund bietet sich für die Prädiktion des Wendepunkts die Methode der Mustererkennung unter Verwendung von ANN an. Bei der Mustererkennung werden aus einem Satz von Messdaten relevante Merkmale extrahiert und über eine Klassifizierung mit ANN auf eine zuvor definierte Klasse abgebildet.

Als zu extrahierende Merkmale dienen die Zeitpunkte, bei denen der pH-Wert zum ersten Mal definierte pH-Werte erreicht oder unterschreitet. Dadurch erhält man als Merkmalsvektor \underline{m} einen Satz von n Messpunkten, der dann auf den Zeitpunkt t_{WP} des Eintreffens des Wendepunkts projiziert werden kann. Dieses Vorgehen ist exemplarisch in Abbildung 5.27 dargestellt.

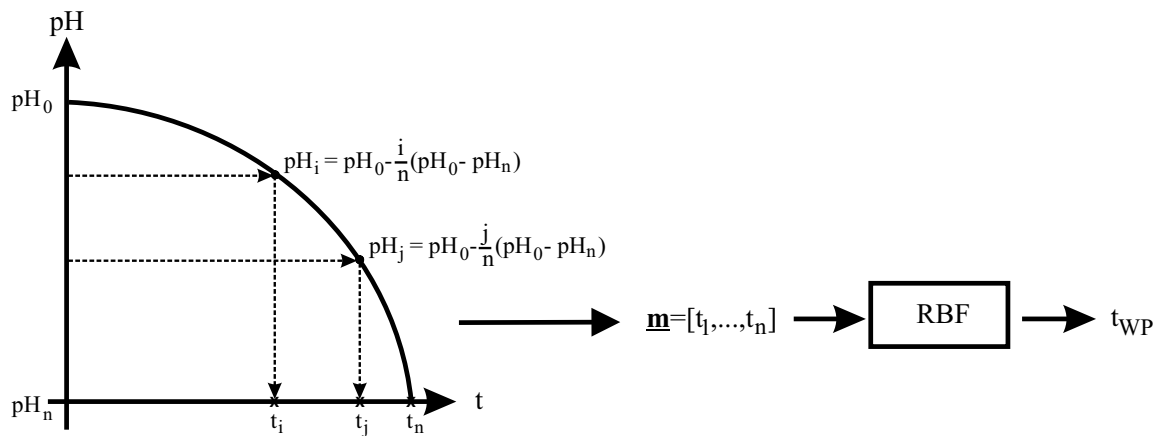


Abb. 5.27: Prinzipielles Vorgehen bei der Prädiktion des Wendepunkts aus dem pH-Wertverlauf unter Verwendung der Merkmalsextraktion und dem Einsatz eines RBF-Netzes.

Die Mustererkennung wird mit einem RBF-Netz konstanter Breite durchgeführt, dessen Zentren durch charakteristische Datenpunkte der Trainingsdatensätze ausgewählt wurden. Da auf Grund der starken Streuung der einzelnen Fermentationen mehrere Trainingsdatensätze notwendig sind, wurde zur Erprobung auf Datensätze der Firma Danisco zurückgegriffen. Dabei wurden sechs Datensätze zum Training des RBF-Netzes verwendet und das Resultat mit einem weiteren verifiziert. Aus den pH -Kurven wurden jeweils fünf pH -Werte extrahiert. Das auf Grund der Verwendung von Industriedaten normierte Ergebnis der Verifikation zeigt Abbildung 5.28.

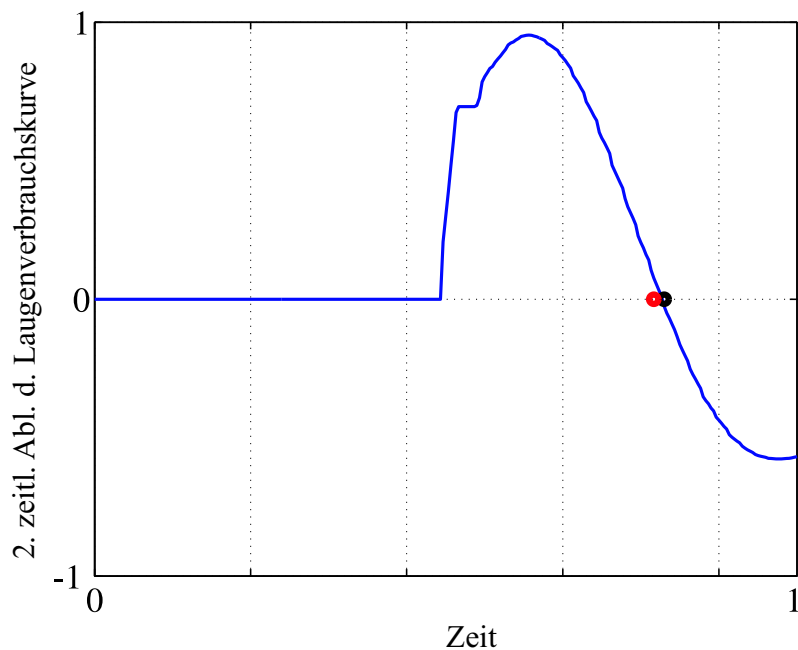


Abb. 5.28: Normiertes Resultat der Prädiktion des Zeitpunkts zu dem der Wendepunkt der Basenverbrauchskurve eintritt;

○: prädizierter Wert; ○: online geschätzter Wert.

Offensichtlich bietet die Methode der Mustererkennung eine Möglichkeit, den Wendepunkt bereits deutlich vor dem eigentlichen Eintreffen zu schätzen, wodurch eine verbesserte Prozessführung möglich wird. Allerdings müssen die hier gezeigten Ergebnisse noch am realen Prozess unter Echtzeit-Bedingungen erprobt werden.

Die vorgestellten Vorgehensweisen sowohl zur Online-Schätzung der zweiten Ableitung der Basenverbrauchskurve als auch zur Wendepunktprädiktion sind in [41] noch einmal detailliert beschrieben.

Kapitel 6

Prozessführung

Dieser Abschnitt beschäftigt sich mit dem Regelungskonzept der modellprädiktiven Regelung (**Model Predictive Control**), mit deren Hilfe der Fermentationsprozess in einer vorab vorgegebenen Weise beeinflusst werden soll. Ein angestrebtes Ziel liegt darin, über die komplette Fermentationszeit hinweg die Menge des Substrats Laktose im Fermenter entlang einer vorgegebenen Trajektorie zu führen. Das bereits angesprochene Prozessführungskonzept wird dabei simulativ sowie experimentell auf seine Leistungsfähigkeit hin untersucht.

6.1 Das Konzept der modellprädiktiven Regelung

Die modellprädiktive Regelung (**Model Predictive Control**) ist eine Regelungsstrategie, die in jedem Entscheidungszeitpunkt durch das Lösen eines Optimierungsproblems über einen vorgegebenen Zeithorizont hinweg den Wert der aktuell optimalen Stellgröße bestimmt. Da in diesem Regelungskonzept Stellgrößenbeschränkungen und Nichtlinearitäten berücksichtigt werden können, ist die nichtlineare modellprädiktive Regelung (NMPC) eines der am häufigsten eingesetzten Verfahren und in manchen Fällen die einzige realisierbare Option [3].

Inzwischen wird die modellprädiktive Regelung in vielen Prozessen standardmäßig eingesetzt, wobei aufgrund des Rechenzeitbedarfs eine langsame Systemdynamik für den Erhalt eines optimalen Regelungsergebnisses notwendig ist.

Im Gegensatz zu konventionellen Regelungskonzepten, die den aktuellen Ist-Zustand des Systems, der ausschließlich Informationen über das Systemverhalten in der Vergangenheit beinhaltet, als Grundlage für die Berechnung der neuen Stellgröße zu verwenden, wird bei der MPC auch der zukünftige Systemzustand in die Ermittlung der optimalen Stellgröße miteinbezogen. Ausgehend von einer möglichen Stellgröße wird mit Hilfe eines mathematischen Modells das zukünftige Systemverhalten prädiziert. Dieser Systemzustand wird dann anhand eines Kostenfunktionalentsprechend bewertet. Die Minimierung dieses Kostenfunktionalentsprechend bezüglich der Stellgröße liefert die Stellgröße, welche das zukünftige Systemverhalten optimal im Sinne des vorgegebenen Gütefunktionalentsprechend beeinflusst. Dabei lassen sich auch eventuell vorhandene Nebenbedingungen berücksichtigen. Das Konzept der MPC ist in Abb. 6.1 strukturell dargestellt. In dieser Skizze bezeichnet w die Referenztrajektorie, y den aktuellen,

realen Prozesszustand, \hat{u} und \tilde{y} eine mögliche Stellgröße und den zugehörigen, prädierten Prozessverlauf, NB potentielle Nebenbedingungen sowie u den durch die Optimierung ermittelten optimalen Wert der Stellgröße.

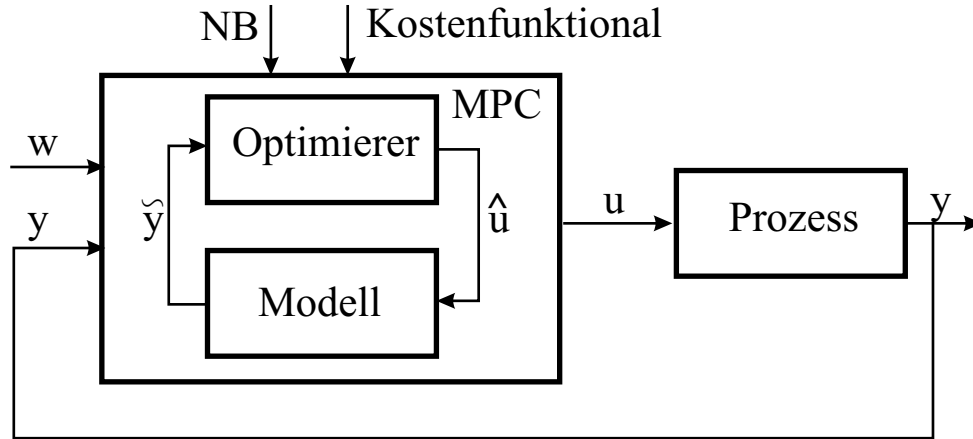


Abb. 6.1: Strukturelle Darstellung des Konzepts der modellprädiktiven Regelung.

Das Kostenfunktional beinhaltet zum einen eine vorab festgelegte Referenztrajektorie, die den gewünschten Trajektorienverlauf der zu regelnden Zustandsgröße vorgibt und zum anderen die mit Hilfe der potentiellen Steuergröße berechnete zukünftige Trajektorie. Als minimale Lösung des Kostenfunktionals ergibt sich die optimale Steuerfolge, die den Prozess entsprechend der gewünschten Trajektorie führt. Der resultierende Stellvektor setzt sich dann aus den Stellgrößen zusammen, die an den jeweiligen Abtastzeitpunkten berechnet wurden. Eine schematische Darstellung der Arbeitsweise der modellgestützten prädiktiven Regelung ist in Abb. 6.2 zu sehen, wobei T_A das Abtastintervall kennzeichnet.

Der Verlauf der zu regelnden Größe wird über einen festgelegten Zeitraum, den sogenannten Prädiktionshorizont N_2 vorhergesagt. Zur Verringerung des numerischen Aufwands kann die Stellgröße nur innerhalb eines sogenannten Steuerhorizonts $N_u < N_2$ verändert werden, während sie für den weiteren Verlauf als konstant angenommen wird. Für die Stellgröße zu Zeitpunkten größer oder gleich N_u gilt somit

$$\underline{u}_{k+i} = \underline{u}_{k+N_u} \quad \text{für} \quad i \geq N_u. \quad (6.1)$$

Des Weiteren ist die Totzeit N_1 zu berücksichtigen, die zwischen dem Eintreffen der aktuellen Messwerte zum Zeitpunkt k und dem tatsächlichen Eingreifen des Reglers in den Prozess zum Zeitpunkt $k + N_1$ entsteht. Ist diese nicht vernachlässigbar klein, muss sie vor Beginn der Optimierung überbrückt werden. Dazu wird mittels eines mathematischen Modells, ausgehend vom aktuellen Prozesszustand, der sich zum

nächsten Abtastzeitpunkt einstellende Zustand berechnet. Die Optimierung erfolgt dann ausgehend von den zum nächsten Abtastzeitpunkt erwarteten Prozesszuständen. Dieses Vorgehen ist in Abb. 6.3 skizziert.

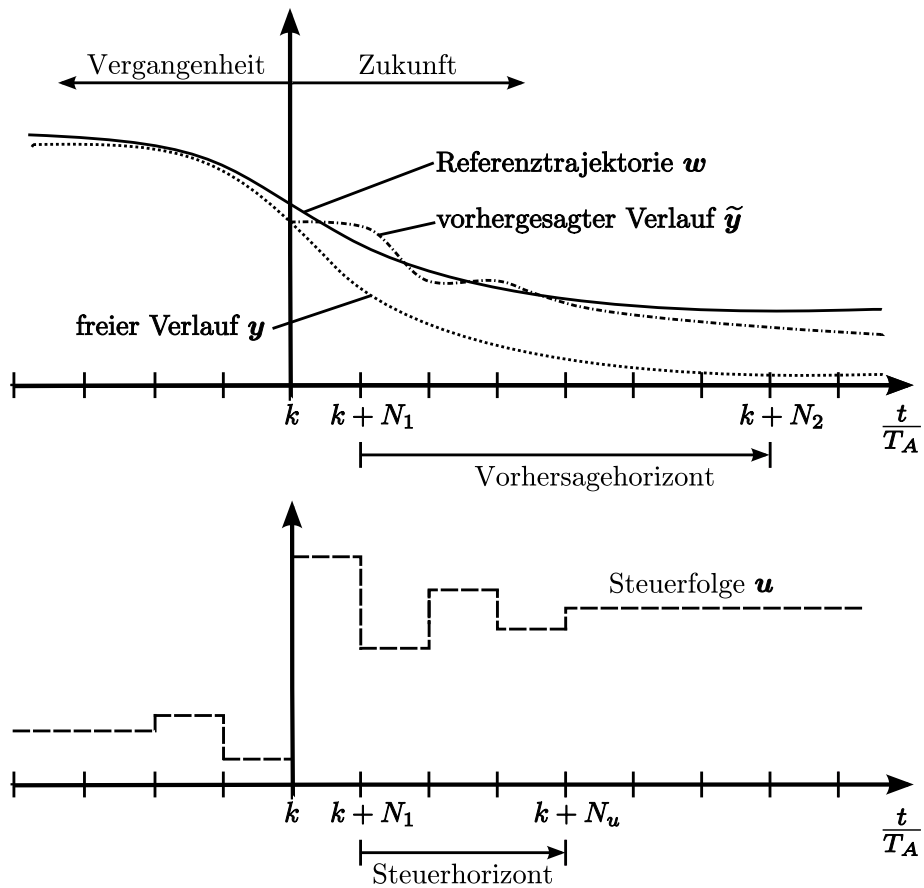


Abb. 6.2: Schematische Darstellung der Arbeitsweise einer modellprädiktiven Regelung.

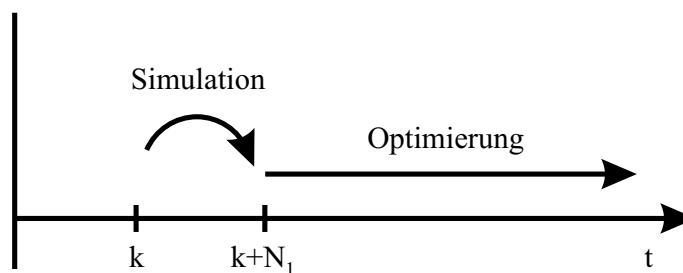


Abb. 6.3: Strukturelles Vorgehen bei nicht vernachlässigbarer Totzeit.

Wie bereits erwähnt erfolgt die mathematische Formulierung des Regelziels anhand eines entsprechenden Gütekriteriums. Ein geeignetes Kriterium kann aus dem quadratischen Gütekriterium abgeleitet werden, wobei sich für den MIMO-Fall die folgende Darstellung ergibt

$$J_k = \sum_{i=N_1}^{N_2} (\underline{y}_{k+i} - \underline{w}_{k+i})^T \mathbf{S} (\underline{y}_{k+i} - \underline{w}_{k+i}) + \sum_{i=N_1}^{N_2} (\Delta \underline{u}_{k+i})^T \mathbf{T} (\Delta \underline{u}_{k+i})$$

mit

$$\Delta \underline{u}_{k+i} = \Delta \underline{u}_{k+N_u} \quad \text{für } N_u \leq i \leq N_2 \quad (6.2)$$

Dieses Gütefunktional bewertet zum einen die Abweichungen zwischen der Wunschtrajektorie und dem prädizierten Prozessverlauf und zum anderen die Änderungen in den Stellgrößen $\Delta \underline{u}$ zwischen zwei aufeinanderfolgenden Zeitpunkten. Damit können zu große Stellgrößenänderungen verhindert werden. Mittels der positiv semi-definiten Gewichtungsmatrizen \mathbf{S} und \mathbf{T} können die Bewertungen der Stellgrößenänderungen und der Regeldifferenzen unterschiedlich gewichtet werden. Diese Matrizen bewerten die Kosten der Regeldifferenz und der Änderung des Stelleingriffs. Sie dürfen keine negativen Werte aufweisen, da sich dies ansonsten kostenmindernd auswirken würde. Durch die Minimierung von Gleichung (6.2) ergibt sich $\Delta \underline{u}$ und damit auch die optimale Stellgrößenfolge \underline{u} .

6.2 Erprobung der Regelungsstrategie am Fermentationsprozess

6.2.1 Versuchsbeschreibung

Das im Abschnitt 6.1 vorgestellte Regelungskonzept wird im Folgenden dazu verwendet, die Fermentation des Bakteriums *Streptococcus thermophilus* in gewünschter Weise zu beeinflussen. Dazu wird vor Prozessbeginn ein entsprechendes Regelziel formuliert. In der hier betrachteten Anwendung soll sich die Konzentration des Substrats Laktose im Medium bis zu einem Zeitraum von 5h auf einem gleichbleibend niedrigen Niveau befinden. Dennoch soll garantiert werden, dass zu jedem Zeitpunkt genau soviel Substrat im Reaktor vorhanden ist, wie das Bakterium zum Überleben benötigt. Dabei spricht man von der Grenze der Substratlimitierung.

Die Grundlage dieses Versuches basiert auf der Hypothese, dass die Bakterien bei

einer gleichbleibend niedrigen Substratkonzentration eine höhere Aktivität aufweisen. Dies würde dazu führen, dass das Endprodukt der Fedbatch-Fermentation im Vergleich zu einem reinen Batchversuch eine bessere Qualität aufweist, da die Aktivität der Bakterien das wichtigste Qualitätsmerkmal darstellt. Auf lange Sicht ließe sich dadurch die Rentabilität der Fermentationsprozesse nachhaltig verbessern. Diese Annahme kann im Rahmen dieser Arbeit nicht verifiziert werden, da die notwendigen Analysen mit den am Institut zur Verfügung stehenden Methoden nicht durchgeführt werden können. In der industriellen Produktion wird das geerntete Produkt in einem Downstreamprozess aufbereitet. Erst im Anschluss daran wird die Aktivität des Produkts bestimmt. Einige grundlegenden Ergebnisse bezüglich der Aktivitätsmessung werden in der parallel angefertigten Dissertation von Barth [4] vorgestellt, ohne jedoch den Downstreamprozess zu berücksichtigen.

Der Wert der gewünschten Substratkonzentration wird auf 3g/l festgelegt. Da aufgrund des verwendeten komplexen Nährmediums bereits ohne explizite Zugabe von Laktose eine hohe Konzentration des Substrats von etwa 15g/l im Medium vorhanden ist, kann das Regelziel erst erreicht werden, wenn ausreichend Laktose verbraucht worden ist. Eine darauf basierende Wunschtrajektorie ist in Abbildung 6.4 zu sehen.

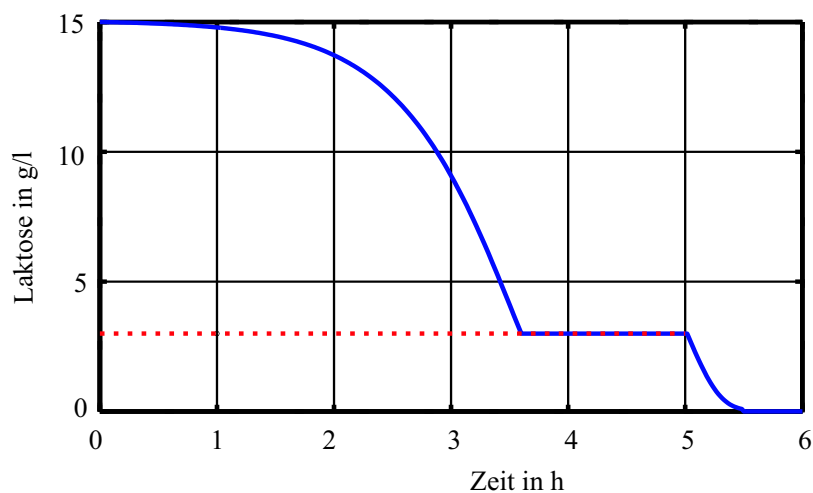


Abb. 6.4: Wunschtrajektorie des Substratverlaufs. In rot ist der gewünschte Verlauf dargestellt, blau gibt den prozesstechnisch realisierbaren Verlauf wieder.

6.2.2 Erprobung der modellprädiktiven Regelung

Zur Realisierung des im vorigen Abschnitt beschriebenen Regelziels wird im Folgenden ein modellprädiktiver Regler verwendet. Die Leistungsfähigkeit dieses Regelungskonzeptes wird zuerst simulativ überprüft. Anschließend wird der Regler in

einem realen Experiment eingesetzt.

Für die Prädiktion des Prozessverhaltens wird das in Kapitel 4.1 hergeleitete Prozessmodell verwendet, wobei die Differentialgleichung für das Substrat additiv um den Wert der Zufütterung, die Stellgröße u , erweitert wird,

$$\dot{c}_S = -Y_S^* \cdot \mu_{max} \cdot \frac{c_S}{c_S + K_S} \cdot \frac{K_P}{c_P + K_P} \cdot c_X + u \cdot \frac{D}{V}. \quad (6.3)$$

Die Variable D gibt die Konzentration von Laktose in der Zufütterung an, V bezeichnet das Fermentervolumen.

Als Ausgangspunkt für die Berechnung der aktuellen Stellgröße dienen die Prozesszustände, die von dem im vorigen Kapitel entworfenen Beobachter zu jedem Abtastzeitpunkt geschätzt werden. Durch eine Simulation über den Prädiktionshorizont $[k + N_1, k + N_2]$ ergeben sich die virtuellen zukünftigen Prozesszustände, die in Kombination mit den Änderungen der dazugehörigen Stellgrößen, $\Delta u_k = u_k - u_{k-1}$, zur Berechnung des Wertes der Kostenfunktion herangezogen werden. Zusätzlich wird im Optimierungsalgorithmus die Stellgrößenbeschränkung $0 \leq u \leq 6\text{ml/min}$ als Nebenbedingung integriert. Die untere Schranke der Stellgröße u ist notwendig, da es prozesstechnisch nicht möglich ist, dem Prozess Substrat zu entziehen. Die obere Schranke gibt die maximale Menge an Substrat an, die dem Prozess pro Minute zugeführt werden kann und ist abhängig von der verwendeten Pumpe. Die Konzentration von Laktose in der Lösung beträgt konstant 175g/l, das Fermentervolumen 2l.

6.2.3 Simulationsergebnisse

Um die Funktionsweise der MPC zu bewerten, wurde vor der Erprobung im realen Experiment der Prozess mit Zufütterung am Rechner simuliert. Als Designparameter des Optimierungsalgorithmus dienen der Steuer- und Prädiktionshorizont, N_u und N_2 , sowie die Gewichtung der Stellgrößenänderungen \mathbf{T} . Um Abweichungen zwischen dem verwendeten Modell und dem realen Prozess zu simulieren, wurden die in der Simulation generierten Prozesszustände mit mittelwertfreiem weißem Rauschen überlagert und anschließend an die MPC übergeben. Die Kovarianzmatrix des Prozessrauschens wurde zu

$$\sigma^2 = \begin{pmatrix} 10^9 & 0 & 0 \\ 0 & 0.01 & 0 \\ 0 & 0 & 0.001 \end{pmatrix}$$

gewählt. Zusätzlich wurde die spezifische maximale Wachstumsrate $\mu_{max,mpc}$ im Prozessmodell des Reglers ab dem Zeitpunkt $t = 3.5\text{h}$ um 10% verändert, um mögliche

Modellfehler zu simulieren und die Robustheit des Reglers gegenüber Modellunsicherheiten zu überprüfen. Die Abtastzeit des Prozesses beträgt in sämtlichen präsentierten Simulationen konstant $T_A = 3\text{min}$. Die Abbildungen 6.5– 6.6 zeigen jeweils die Verläufe der Substratkonzentration und der Stellgröße bei unterschiedlichen Reglerkonfigurationen und einem Anheben der maximalen spezifischen Wachstumsrate um 10%, $\mu_{max,mpc} = 1.1 \cdot \mu_{max}$. In Abb. 6.7 ist das Resultat bei einem Absenken der maximalen spezifischen Wachstumsrate um 10%, $\mu_{max,mpc} = 0.9 \cdot \mu_{max}$, dargestellt. Bei der Betrachtung sämtlicher Abbildungen ist deutlich zu erkennen, dass das Konzept der MPC in der Simulation zu beachtlichen Resultaten führt und dem Verlauf der vorgegebenen Trajektorie sehr gut folgt. Ein Vergleich der Abbildungen 6.5 a) und b) zeigt, dass die Länge des Prädiktionshorizontes keinen signifikanten Einfluss auf das Regelergebnis besitzt. In beiden gezeigten Simulationen wurden sämtliche Stellgrößenänderungen zugelassen, die entsprechende Gewichtungsmatrix im Gütefunktional wurde zu $\mathbf{T} = \mathbf{0}$ gewählt. Bewertet man zusätzlich noch die Änderung der Stellgrößen, $\mathbf{T} \neq \mathbf{0}$, sind die Differenzen in den Ausschlägen der Stellgröße im Vergleich zu den vorigen Konfigurationen deutlich geringer, ohne dass die Qualität der Sollwertfolge dadurch beeinträchtigt wird, vgl. Abb. 6.6 a). Für den Fall, dass der Zeitraum der konstanten Laktosekonzentration verlängert werden soll, lässt sich mit der MPC ebenfalls ein gutes Ergebnis erzielen. Abbildung 6.6 b) zeigt das Ergebnis einer Simulation, bei der die Konzentration bis zu einer Prozesszeit von 6 Stunden konstant gehalten werden sollte. Bei Betrachtung der Stellgröße fällt auf, dass im Bereich über 5 Stunden die Zufütterung stark zunimmt und teilweise auch an die maximal zulässige Grenze von 6ml/min stößt. Eine striktere Stellgrößenbegrenzung würde dazu führen, dass das Regelziel, ein konstanter Verlauf der Substratkonzentration, nicht mehr erreicht wird. Die Menge an Laktose, die von den Bakterien verbraucht wird, könnte nicht mehr in ausreichendem Maße zugefüttert werden. Das in Abb. 6.7 dargestellte Resultat zeigt, dass auch bei einem Absenken der maximalen Wachstumsrate im Prozessmodell, $\mu_{max,mpc} = 0.9 \cdot \mu_{max}$, das gewünschte Ergebnis erzielt wird.

Es lässt sich festhalten, dass mit der Methode der MPC die Substratkonzentration entsprechend einer vorgegebenen Trajektorie geführt werden kann. Um jedoch eine endgültige Aussage über die Leistungsfähigkeit dieses Ansatzes treffen zu können, wird diese Methode im Folgenden zur Regelung der Substratkonzentration in einem Echtzeitexperiment erprobt.

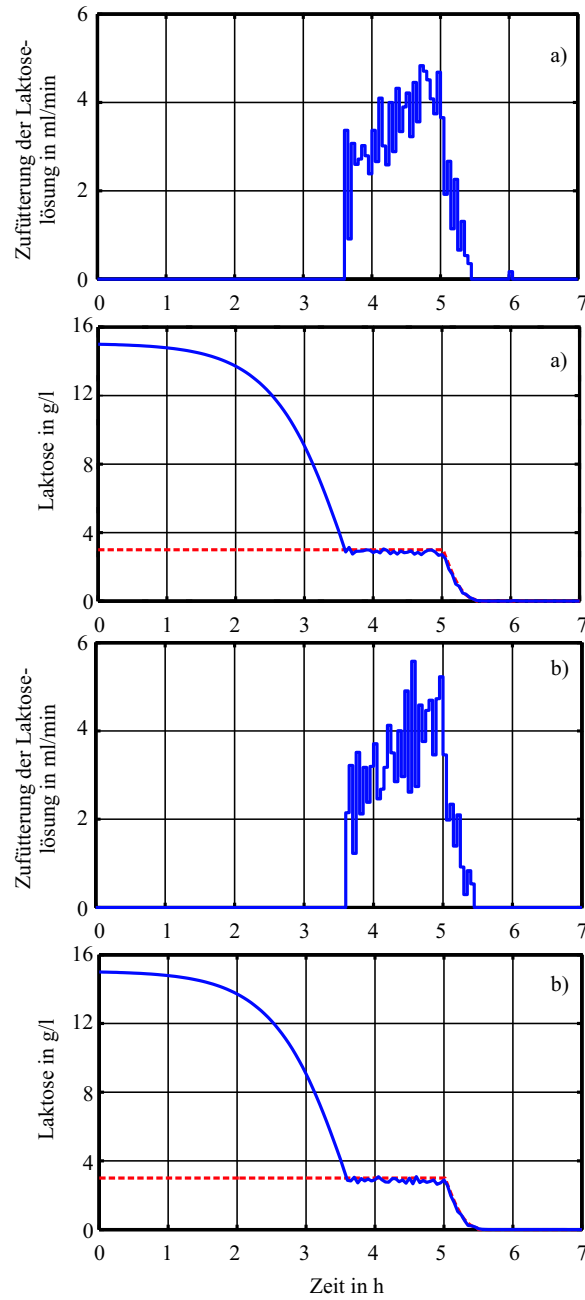


Abb. 6.5: Simulation mit Steuerhorizont $N_u = 6$, ohne Berücksichtigung der Stellgrößenänderungen, $\mathbf{T} = 0$. Für die Simulation des Modellfehlers wird $\mu_{max,mpc} = 1.1\mu_{max}$ angenommen. Als Prädiktionshorizont wurde gewählt:
a) $N_2 = 36$ und b) $N_2 = 24$.

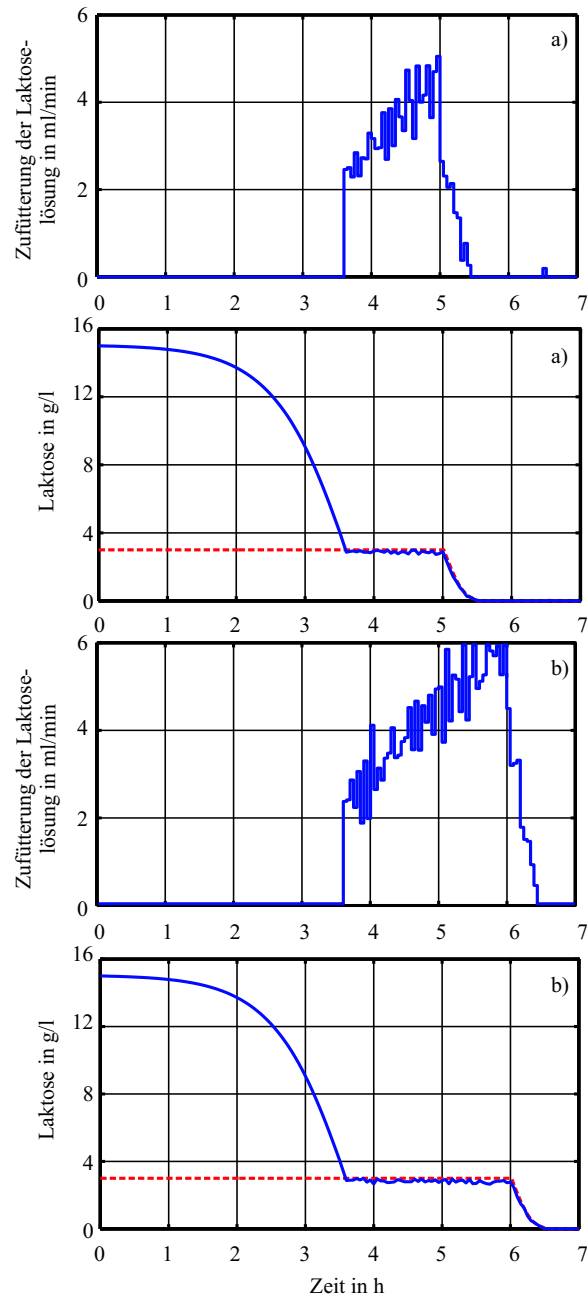


Abb. 6.6: Simulation mit Steuerhorizont $N_u = 6$ und Berücksichtigung der Stellgrößenänderungen, $\mathbf{T} = 1$. Für die Simulation des Modellfehlers wird $\mu_{max,mpc} = 1.1\mu_{max}$ angenommen. Als Prädiktionshorizont wurde in beiden Fällen $N_2 = 24$ gewählt.

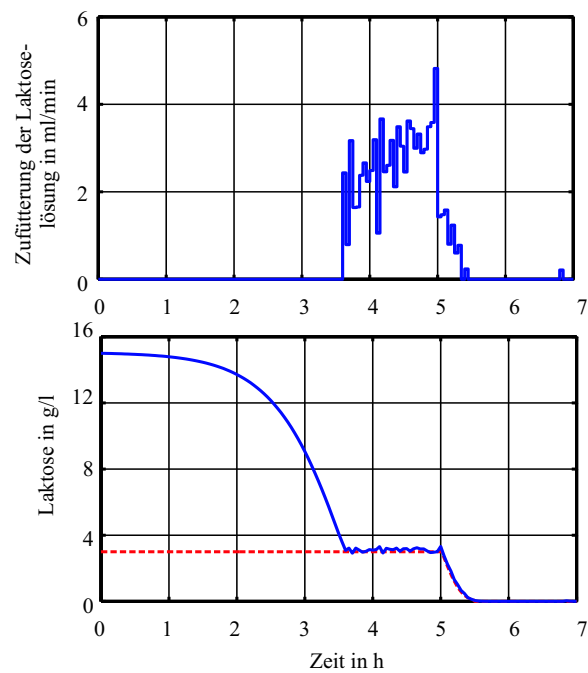


Abb. 6.7: Simulation mit den Designparametern $N_2 = 24$, $N_u = 6$ und Berücksichtigung der Stellgrößenänderungen, $\mathbf{T} = 1$. Für die Simulation des Modellfehlers wird $\mu_{max,mpc} = 0.9\mu_{max}$ angenommen.

6.2.4 Versuchsergebnisse

Die modellprädiktive Regelung wurde in einem experimentellen Fedbatch-Versuch auf ihre Leistungsfähigkeit untersucht. Dazu wurde ein komplexes Medium in einem 2 Liter Fermenter angesetzt, wobei sich die Anfangskonzentration des Substrates ausschließlich aus der in den unterschiedlichen Medienbestandteilen bereits vorhandenen Laktose zusammensetzt. Das über diese Menge hinaus benötigte Substrat wird während des Prozesses über ein Pumpen-Waage-System zugeführt. Der pH-Wert des Mediums wurde wiederum auf einen Wert von 6.5 voreingestellt. Aufgrund des Zellmetabolismus wird im Laufe der Fermentation die Säure Laktat produziert, so dass zu Prozessbeginn ein Abfall des pH-Werts zu beobachten ist. Mit Einsetzen der pH-Regelung bei einem Wert von 6.0 wird Lauge zudosiert um den pH-Wert auf einen vorgegebenen Sollwert einzustellen. Die Zudosierung des Substrats Laktose wurde mittels der angesprochenen MPC realisiert. Die Substratkonzentration im Medium wurde mit Hilfe des in Kapitel 5.6.3 vorgestellten Zustandsschätzers online bestimmt. Der Prädiktions- und Steuerhorizont wurden zu 24 respektive 6 Minuten gewählt. Die Resultate dieses Versuchs sind in den Abbildungen 6.8- 6.10 dargestellt.

Man kann deutlich erkennen, dass zu Prozessbeginn die Konzentration des Substrats abfällt, bis der Zielwert erreicht ist. Im weiteren Fermentationsverlauf gelingt es mit Hilfe der Regelung, die Konzentration der Laktose auf einem vordefinierten, konstanten Zielwert zu halten. Da die Konzentration der Laktose zu Prozessbeginn von den einzelnen Medienbestandteilen abhängt, kann der Startwert nicht frei gewählt werden, wodurch sich diese Zustandsgröße erst auf den Zielwert regeln lässt, wenn dieser bereits erreicht ist.

Die ebenfalls in Abbildung 6.8 dargestellte Eingangsgröße zeigt das erwartete Verhalten. Mit Erreichen des gewünschten Werts beginnt die Zufuhr des Substrats Laktose genau in der Menge, die von den Bakterien für den Erhaltungsstoffwechsel benötigt wird.

Die Resultate der Keimzahl und der Laktatkonzentration im Medium sind in Abbildung 6.9 dargestellt. Offensichtlich nimmt die Produktkonzentration im Medium so lange zu, solange noch Substrat im Medium vorhanden ist, da auf Grund des Zellmetabolismus die Laktose unter anderem in Laktat zerlegt wird. Die Keimzahl zeigt ebenfalls das erwartete Verhalten bezüglich Wachstum und Erhaltungsstoffwechsel, welches bereits in den reinen Batchfermentationen beobachtet werden konnte. Das ist nicht überraschend, da die Menge an Substrat die im Prozessverlauf verstoffwechselt wird in etwa derjenigen entspricht, die in einem Batchversuch von Beginn an vorgelegt wird. Das bedeutet weiterhin, dass die Art und Weise wie das Substrat dem Prozess zugeführt wird, auf die Anzahl der produzierten Zellen keinen Einfluss hat. Wie bereits erwähnt konnte die Aktivität der einzelnen Zellen nach der dem Prozess nachgelagerten Aufbereitung im Laufe dieser Arbeit nicht überprüft werden.

Abbildung 6.10 zeigt die Verläufe des pH-Werts und der Leitfähigkeit. Im Bereich konstanter Substratzufuhr steigt die Leitfähigkeit linear an. Diese Beobachtung bein-

haltet, dass die Aktivität der Bakterien ebenfalls konstant ist. Da die Aktivität in der industriellen Produktion als Qualitätskriterium angesehen wird, könnte sich aus dem Resultat der Leitfähigkeit eine konstante Qualität des Endproduktes ableiten lassen.

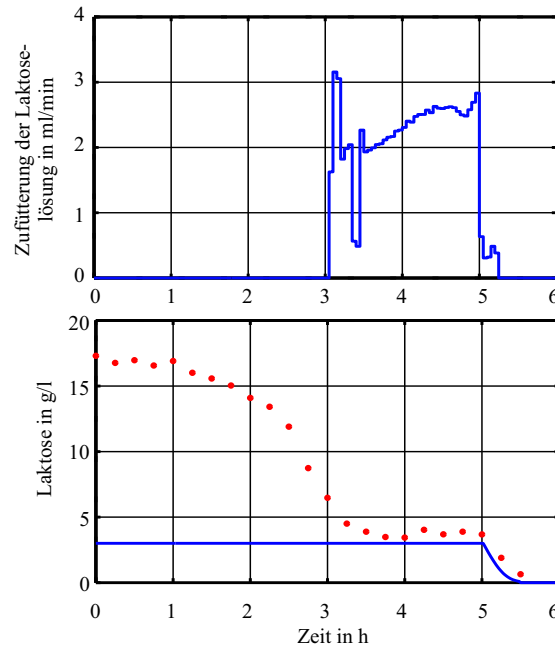


Abb. 6.8: Resultate der Laktosekonzentration und des zugehörigen Zufütterprofils bei einem Fedbatch-Versuch mit MPC.
 oberes Bild: - Reales Profil;
 unteres Bild: • Messwerte, - Wunschtrajektorie

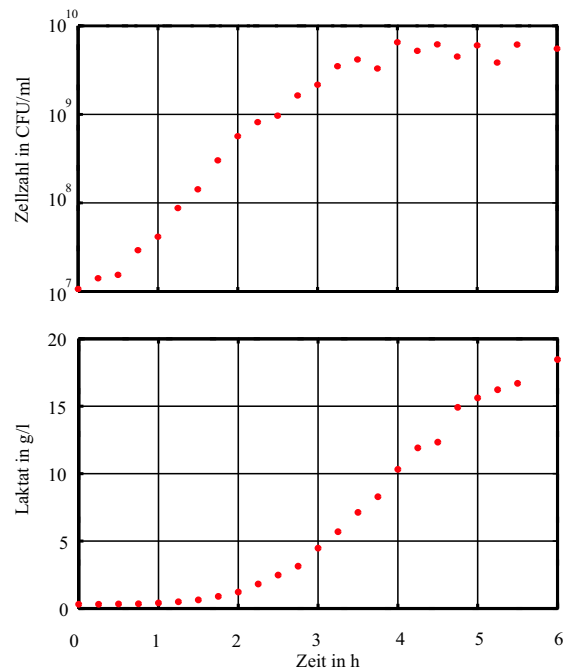


Abb. 6.9: Resultate der Laktatkonzentration und der Keimzahl bei einem Fedbatchversuch mit MPC.

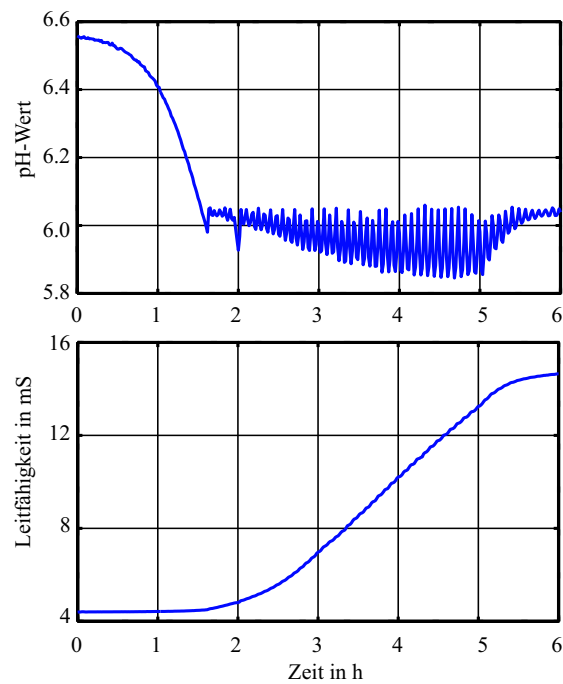


Abb. 6.10: Resultate des pH-Werts und der Leitfähigkeit bei einem Fedbatchversuch mit MPC.

Kapitel 7

Zusammenfassung und Ausblick

Das Bakterium *Streptococcus thermophilus* ist ein wichtiger Bestandteil in der Milchverarbeitenden Industrie und wird beispielsweise als Starterkultur zur Herstellung von Joghurt und Käse eingesetzt. Die Fermentationsprozesse zur Produktion dieses Bakteriums basieren bisher hauptsächlich auf traditionellen Verfahrensweisen und Erfahrungswissen des Laborpersonals, wobei experimentellen Versuchsdaten eine hohe Bedeutung zukommt.

Die vorliegende Arbeit ist Bestandteil eines industriellen Kooperationsprojekts, welches als Ziel die Entwicklung einer leistungsfähigen Prozessführung für die Fermentation unterschiedlicher Starterkulturen vorgibt, um zukünftig ein qualitativ hochwertiges Produkt wirtschaftlicher herstellen zu können. In dieser Arbeit wurden grundlegende Möglichkeiten zur Prozessüberwachung und Prozessregelung des Fermentationsprozesses aufgezeigt, die mittelfristig zu einer Automatisierung und Optimierung des kompletten Herstellungsprozesses führen sollen.

7.1 Zusammenfassung

Der Fermentationsprozess kann anhand der drei dominierenden Zustandsgrößen Keimzahl, Substrat Laktose und Produkt Laktat beschrieben werden. Die mathematische Modellierung des Zellwachstums und des Stoffwechselvorgangs führt auf ein dynamisches Modell dreier gekoppelter Differentialgleichungen, das den Wachstumsprozess hinreichend genau beschreibt. Die Bestimmung der exponentiellen Wachstumskinetik erfolgt mit Hilfe des formalkinetischen Ansatzes von Monod.

Das hergeleitete Differentialgleichungssystem wird anhand von fünf Parametern charakterisiert. Dabei handelt es sich um die maximale Wachstumsrate des Bakteriums, die Ausbeutekoeffizienten für das Substrat Laktose und das Produkt Laktat, sowie eine Limitierungs- und eine Inhibierungskonstante. Die Parameter werden unter Verwendung eines mehrstufigen Optimierungsverfahrens geschätzt. Dadurch erhält man schließlich ein mathematisches Modell, das den Fermentationsprozess beschreibt und den Verlauf der drei charakteristischen Prozessgrößen Keimzahl, Laktose und Laktat gut wiedergibt. Basierend auf dem hergeleiteten Prozessmodell wird im weiteren Verlauf eine funktionierende Prozessführung entwickelt.

Keine der drei Zustandsgrößen kann mit Hilfe von Hardware Sensoren direkt in Echtzeit bestimmt werden. Diese sind für eine automatisierte Prozessüberwachung aber von essentieller Bedeutung. Daher müssen diese Größen indirekt aus verfügbaren Online-Messdaten, beispielsweise aus dem pH-Wert und der Leitfähigkeit, ermittelt werden. Dazu werden künstliche Neuronale Netze verwendet, die mit Hilfe der erwähnten Messwerte und den Startwerten der zu schätzenden Größen in der Lage sind, die gesuchten Prozessgrößen in Echtzeit zu schätzen. Es hat sich gezeigt, dass die Qualität der vom Neuronalen Netz geschätzten Ergebnisse besonders von den a priori festzulegenden Startwerten abhängt. Diese können jedoch vor Fermentationsbeginn nur für Laktose und Laktat mit Hilfe einer HPLC gemessen werden. Für die Keimzahl ist es nicht möglich, den Startwert vor Fermentationsbeginn messtechnisch zu erfassen. Aus diesem Grund wird der Startwert der Keimzahl unter Verwendung eines optimierungsbasierten Zustandsschätzers in den ersten fünfzig Minuten des Prozesses dynamisch angepasst und dient dem Neuronalen Netz als zusätzliche Information für die Schätzung der Keimzahl. Das im vorigen Kapitel entwickelte mathematische Modell dient dabei als Prozessmodell des optimierungsbasierten Zustandsschätzers. Als Messgrößen werden die online zur Verfügung stehenden Schätzergebnisse des Neuronalen Netzes für Laktose und Laktat verwendet. Die Kombination des Neuronalen Netzes mit dem optimierungsbasierten Zustandsschätzer führt zu einer deutlich verbesserten Schätzung der Keimzahl.

Es stellte sich heraus, dass diese Methodik auch bei einem Fedbatch-Versuch gute Ergebnisse liefert, solange eine Prozessgröße nicht durch eine externe Zufütterung beeinflusst wird. Ist dies jedoch der Fall, so stimmen die mit den bisherigen Netzen erzielten Resultate für die entsprechende Zustandsgröße nicht mehr mit den tatsächlichen Prozessgrößen überein. Es besteht allerdings die Möglichkeit, die Menge der Zugabe als zusätzliche Größe mit aufzunehmen. Ein zuverlässiges Schätzergebnis erhält man jedoch nur dann, wenn die Netze mit einer ausreichenden Menge an Datensätzen vorab trainiert werden konnten. Für diese Arbeit standen diese jedoch nicht in genügender Anzahl zur Verfügung. Statt dessen wurde die Schätzung der extern beeinflussten Zustandsgröße mittels des abgeleiteten mathematischen Wachstumsmodells durchgeführt. Das dynamische Verhalten der entsprechenden Zustandsgröße konnte dabei in jedem Zeitintervall aus den aktuellen Schätzwerten näherungsweise bestimmt werden. Der aktuelle Schätzwert des Zustandspunkts berechnete sich dann aus dem vorhergehenden Schätzergebnis, dem approximierten dynamischen Verhalten und der Länge des Zeitintervalls. Dadurch konnte die Schätzung der Zustandstrajektorie deutlich verbessert werden.

Ein weiterer wichtiger Aspekt der Prozessüberwachung ist die Vorhersage eines charakteristischen Prozesszeitpunktes, dem Wendepunkt der Basenverbrauchskurve. Auf Grund langjähriger Fermentationserfahrung gilt dieser Zeitpunkt als derjenige, bei dem die sogenannte Aktivität der Bakterien maximal ist. Die Aktivität ist als her-

ausragendes Qualitätsmerkmal von besonderer Bedeutung für das Fermentationsergebnis. Eine exakte Bestimmung des Zeitpunkts maximaler Aktivität kann zum einen zu einem zielgenauen Abschalten des Fermenters führen, zum anderen kann auch der anschließende Downstreamprozess schon vorab vorbereitet werden, so dass das geerntete Produkt sofort weiter verarbeitet werden kann. Die Prädiktion dieses Prozesszeitpunktes erfolgt durch ein RBF-Netz (Radiales-Basisfunktionsnetz). Als Eingangsvektor dient dabei ein Zeitvektor, der den Abfall des pH-Wertes bis zum Erreichen einer unteren Schranke des pH-Wertes charakterisiert. Dadurch ist eine Aussage über die Vitalität der Bakterien und somit über die Geschwindigkeit des Fermentationsprozesses möglich.

Neben der Zustandsgrößenschätzung und der Prädiktion des Wendepunktes der Basenverbrauchskurve wurde auch ein Konzept für die Trajektorienfolgeregelung der Substratkonzentration realisiert. Die Substratkonzentration soll dabei über einen längeren Zeitraum hinweg auf einem konstant niedrigen Niveau gehalten werden. Dadurch erhofft man sich zukünftig eine höhere Aktivität der Zellen und somit eine Qualitätssteigerung des Endproduktes. Ob die Regelung der Substratkonzentration auf einem niedrigen Niveau jedoch tatsächlich zu einer Aktivitätssteigerung führt, konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht überprüft werden. Da sich die Aktivität des Bakteriums erst nach abgeschlossenem Downstreamprozess abschließend bestimmen lässt, ist eine entsprechende Analyse im Institutslabor nicht möglich, da die notwendigen Aufbereitungsanlagen nicht zur Verfügung stehen.

Für die Trajektorienfolgeregelung der Substratkonzentration wurde eine modellprädiktive Regelung implementiert. Dabei zeigte sich, dass die modellprädiktive Regelung sehr gute Regelergebnisse liefert. Bei der modellprädiktiven Regelung wird die Zufütterstrategie zu jedem Abtastschritt durch Simulation des mathematischen Prozessmodells und Optimierung eines vorab definierten Gütekriteriums über dem Prädiktionshorizont neu berechnet. Das Gütefunktional beinhaltet dabei die Differenz aus gewünschten Prozessgrößen und den Prozessgrößen, die simulativ ermittelt werden. Zusätzlich kann auch die potentielle Änderung der Stellgröße noch mit in das Gütefunktional einbezogen werden. Der Optimierungsalgorithmus sucht dann die Stellgröße, die das zukünftige Prozessverhalten so beeinflusst, dass die Differenz zwischen gewünschtem und simuliertem Trajektorienverlauf minimal wird.

7.2 Weiterführende Arbeiten

Im weiteren Verlauf des Kooperationsprojektes sollten die im Labormaßstab erzielten Resultate in einem Scale-Up auf die entsprechenden Produktionsanlagen übertragen werden. Im Vordergrund steht dabei zuerst die Anbindung der entwickelten Soft-

ware an das firmeninterne Prozessleitsystem. Anschließend müssen die entwickelten Methoden für größere Fermenter angepasst werden. Dabei ist es von entscheidender Bedeutung, dass eine ausreichende Anzahl Prozessdaten aus verschiedenen Fermentationsprozessen zur Verfügung steht, um die Neuronalen Netze entsprechend trainieren zu können.

Des Weiteren ist der Einfluss der Kühlstrategie auf die Qualität des Endprodukts von großem Interesse. Dazu müssen unterschiedliche Kühlstrategien untersucht werden. Von besonderer Bedeutung ist dabei der Zeitpunkt des Einsetzens der Kühlung und die benötigte Kühlleistung, die die Dynamik des Kühlvorgangs bestimmt. Dadurch soll der Kühlverlauf ermittelt werden, der das qualitativ beste Endprodukt liefert. Eine Kombination der ermittelten besten Kühlstrategie mit einer gezielten Substratzufütterung könnte schließlich zu einer Fermentationstrajektorie führen, die das bestmögliche Endprodukt garantiert.

Zusätzlich sollen die erzielten Ergebnisse auch auf die Kultivierung weiterer Bakterienstämme übertragen werden, so dass zum Abschluss des Projektes ein umfangreiches und leistungsstarkes Softwaretool zur Verfügung steht. Dieses soll die Fermentationsprozesse unterschiedlicher Bakterienstämme überwachen, die notwendigen Prozessgrößen entsprechend regeln und den Prozess schließlich gemäß einer vorgegebenen Strategie optimal abkühlen.

Die Umsetzung dieser Teilprojekte wird den Automatisierungsgrad bei der Fermentation von Starterkulturen deutlich erhöhen.

Literatur

- [1] 2008. <http://lexikon.freenet.de/Nervenzelle>.
- [2] 27.07.2009. <http://www.geagroup.com/de/maerkte/milchwirtschaft.html>.
- [3] Alamir, M.; Allgöwer, F.: Editorial Modell Predictive Control. *Robust and Non-linear Control*, 18(8) S. 799, 2008.
- [4] Barth, D.: *Mathematische Analyse biotechnologischer Prozesse am Beispiel der Fermentation von Streptococcus thermophilus (Arbeitstitel)*. Dissertation, Christian-Albrechts Universität Kiel, 2010.
- [5] Barth, D.; Hörrmann, J.; Röck, H.: First Steps Towards Automation of the Cultivation of Streptococcus thermophilus. *6th European Symposium on Biochemical Engineering Science - ESBES 6, Salzburg/Austria*, 2006.
- [6] Barth, D.; Hörrmann, J.; Röck, H.: Comprehensive Model for the Cultivation of Streptococcus thermophilus. *European BioPerspectives, Köln/Germany*, 2007.
- [7] Barth, D.; Hörrmann, J.; Röck, H.: Modellbasierte Prozessoptimierung der Herstellung von Streptococcus thermophilus als Starterkultur. *ProcessNet Jahrestagung, Aachen/Germany*, 2007.
- [8] Barth, D.; Hörrmann, J.; Röck, H.: Parameter Identification of Streptococcus thermophilus Fermentation Model using Genetic Algorithms. *7th European Symposium on Biochemical Engineering Science, Faro/Portugal*, 9 2008.
- [9] Batt, B. C.; Kompala, D. S.: A structured kinetic modelling framework for the dynamics of hybridoma growth and monoclonal antibody production in continuous suspension cultures. *Biotchnol. Bioeng.*, 34 S. 515–531, 1989.
- [10] Biener, R.: *Modellbildung und modellgestützte Prozessführung bei tierischen Zellkulturen*, *Fortschritt-Berichte VDI Reihe 17*, Band 178. VDI-Verlag, Düsseldorf, 1998.
- [11] Bogaerts, P.: *Contribution à la Modélisation Mathématique pour la Simulation et l'Observation d'États des Bioprocédés*. Dissertation, Université Libre de Bruxelles, 1999.

- [12] Buchen, A.: *Modellierung des Wachstums und der Einschlusskörperbildung des Bakteriums Photorhabdus luminescens*. Dissertation, Christian-Albrechts Universität Kiel, 2007.
- [13] D. Rumelhart, J. L. M.: *Parallel Distributed Processing: Explorations in the Microstructure of Cognition*. MIT Press, Cambridge, 1986.
- [14] D. Rumelhart, G. Hinton, R.: Learning representations by back-propagating errors. *Nature*, (323) S. 533–536, 1986.
- [15] Davidon, W. C.: Variable metric method for minimization. *SIAM Journal of Optimization*, 1 S. 1–17, 1991.
- [16] Dellweg, H.: *Biotechnologie - Grundlagen und Verfahren*. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, 1987.
- [17] Fisher, R. A.: *Statistical Methods for Research Workers*. Oliver and Boyd, Edinburgh, 1950.
- [18] Fletcher, R.; Reeves, C. M.: Function minimization by conjugate gradients. *Computer Journal*, 7 S. 149–154, 1964.
- [19] Gelb, A.; et al.: *Applied Optimal Estimation*. The MIT Press, 1992.
- [20] Gerdes, I.; Klawonn, F.; Kruse, R.: *Evolutionäre Algorithmen*. Vieweg, 2004.
- [21] Haag, J. E.: *Dynamic Modelling and State Estimation of Complex Bioprocesses*. Dissertation, Faculté Polytechnique de Mons, 2004.
- [22] Harvey, R. J.: Damage to *Streptococcus lactis* resulting from Growth at Low pH. *Journal of Bacteriology*, November 1965.
- [23] Hauttmann, S.: *Entwicklung und Charakterisierung eines Sensors zur impedanzspektroskopischen Analyse von biologischen Zellsuspensionen*. Dissertation, Technische Universität Hamburg Harburg, 2001.
- [24] Haykin, S.: *Neural Networks - A Comprehensive Foundation*. Maxwell Macmillan International, New York, 1994.
- [25] Hestenes, M. R.; Stiefel, E.: Methods of conjugate gradients for solving linear systems. *Journal of Research of the National Bureau of Standards*, 49 S. 409–436, 1952.
- [26] Hols, P.; et al.: New insights in the molecular biology and physiology of *Streptococcus thermophilus* revealed by comparative genomics. *FEMS Microbiology Reviews*, 29 S. 435–463, 2005.

- [27] Hooke, R.; Jeeves, T. A.: Direct search solution of numerical and statistical problems. *Journal of the Association of Computing Machinery*, 8 S. 212–229, 1961.
- [28] Hörrmann, J.; Barth, D.; Kräling, M.; Röck, H.: State Estimation in Bioprocesses - Extended Kalman Filter vs. Neural Networks. *9th IASTED International Conference on Control and Applications, Montreal/Canada*, 2007.
- [29] Hörrmann, J.; Barth, D.; Kräling, M.; Röck, H.: Software-Sensor Based Determination of Important Process States in Biotechnological Fermentations. *7th European Symposium on Biochemical Engineering Science, Faro/Portugal*, 2008.
- [30] Hörrmann, J.; Barth, D.; Kräling, M.; Röck, H.: State Estimation in Biotechnological Processes Using a Software-Sensor combining Full-Horizon Observer and Neural Networks. *17th IFAC World Congress, Seoul/South Korea*, 2008.
- [31] Hörrmann, J.; Barth, D.; Röck, H.: Software-Sensor basierte Online-Schätzung von Biomasse. *DECHEMA/GVC Vortrags- und Diskussionstagung über Aufarbeitung biotechnologischer Produkte, Osnabrück/Germany*, 2007.
- [32] Hörrmann, J.; Kräling, M.; Barth, D.; Röck, H.: Trajectory Tracking Control for the Fermentation of Biotechnological Processes. *International Conference on Identification, Control and Applications ICA, Honolulu/USA*, 2009.
- [33] Hörrmann, J.; Röck, H.: Prozessüberwachung bei der Produktion von Starterkulturen unter Zuhilfenahme Neuronaler Netze. *Regelungstechnisches Kolloquium, Boppard/Germany*, 2009.
- [34] Hutkins, R.: University of Nebraska.
- [35] Huyer, W.; Neumaier, A.: Global optimization by multilevel coordinate search. *Journal of Global Optimization*, 14 S. 331–355, 1999.
- [36] Ingber, L.: Adaptive Simulated Annealing (ASA): Lessons learned. *Control and Cybernetics*, 25 S. 33–54, 1996.
- [37] Jaulin, L.; et al: *Applied Interval Analysis*. Springer, London, 2001.
- [38] Kalman, R. E.: A New Approach to Linear Filtering and Prediction Problems. *ASME-Journal of Basic Engineering*, 82D S. 35–45, 1960.
- [39] Kalman, R. E.; Bucy, R. S.: New Results in Linear Filtering and Prediction Theory. *ASME-Journal of Basic Engineering*, 83D S. 95–108, 1961.
- [40] Kriesel, D.: *Ein kleiner Überblick über Neuronale Netze*, 2007. Erhältlich auf <http://www.dkriesel.com>.

- [41] Kräling, M.: *Anwendung künstlicher Neuronaler Netze zur Prozessüberwachung der Fermentation des Bakteriums Streptococcus thermophilus*. Diplomarbeit, Christian-Albrechts Universität Kiel, 2008.
- [42] Lagarias, J. C.; et al: Convergence properties of the Nelder-Mead simplex method in low dimensions. *SIAM Journal of Optimization*, 9 S. 112–147, 1998.
- [43] Lebert, K.: *Modellierung des Wachstums von Photorhabdus luminescens über die modellgestützte Gasanalyse*. Dissertation, Christian-Albrechts Universität Kiel, 1999.
- [44] Lewis, R. M.; Torczon, V.; Trosset, M. W.: Direct search methods: then and now. *Journal of Computational and Applied Mathematics*, 124 S. 191–207, 2000.
- [45] Lunze, J.: *Regelungstechnik 2: Mehrgrößensysteme, Digitale Regelung*. Springer, Berlin, 2005.
- [46] Monod, J.: *Recherche sur la Croissance des Cultures Bacteriennes*. Herman, Paris, 1942.
- [47] Nelder, J. A.; Mead, R.: A simplex method for function minimization. *Computational Journal*, 7 S. 308–313, 1965.
- [48] Nocedal, J.; Wright, S. J.: *Numerical Optimization*. Springer, New York, 1999.
- [49] O. M. Neijssel, J. L. S.; de Mattos, M. J. T.: Regulation of energy source metabolism in streptococci. *Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement*, 83 S. 12–19, 1997.
- [50] Oliver Gronau: 2006. Persönliche Mitteilung.
- [51] Poggio, T.; Girosi, F.: *A theory of networks for approximation and learning*. MIT Press, Cambridge, 1989.
- [52] Polak, E.; Ribière, G.: Note sur la convergence de méthodes de directions conjuguées. *Revue Française d'Informatique et de Recherche Opérationnelle*, 16 S. 35–43, 1969.
- [53] Powell, M. J. D.: An efficient method for finding the minimum of a function of several variables without calculating derivatives. *Computational Journal*, 7 S. 155–162, 1964.
- [54] Rao, C.; Arkin, A.: Stochastic chemical kinetics and the quasi-steady-state assumption: Application to the Gillespie algorithm. *Journal of Chemical Physics*, 118(11), 2003.

- [55] Robertson, D. G.; Lee, J. H.; Rawlings, J. B.: A Moving Horizon-Based Approach for Least-Squares Estimation. *AIChE Journal*, 42(8) S. 2209–2224, 1996.
- [56] Rosenbrock, H. H.: An automatic method for finding the greatest or least value of a function. *Computational Journal*, 3 S. 175–184, 1960.
- [57] Rothfuß, R.; Zeitz, M.: Einführung in die Analyse nichtlinearer Systeme. Engell, S., Herausgeber, *Entwurf nichtlinearer Regelungen*. Oldenbourg, 1995.
- [58] Sachs, L.: *Angewandte Statistik*. Springer Verlag, 2002.
- [59] Schlegel, H. G.: *Allgemeine Mikrobiologie*. Georg Thieme Verlag, 7. Auflage 1991.
- [60] Seydel, P.: *Modellbasierte Prozessführung zur Kultivierung des Bakteriums Photorhabdus luminescens*. Dissertation, Christian-Albrechts Universität Kiel, 2002.
- [61] Spendley, W.; Hext, G. R.; Himsworth, F. R.: Sequential application of simplex designs in optimisation and evolutionary operation. *Technometrics*, 4 S. 441–461, 1962.
- [62] Stanka, R.: *Entwicklung einer Prozessumgebung für die kontinuierliche Kultivierung von Photorhabdus luminescens in einem Chemostaten*. Dissertation, Christian-Albrechts Universität Kiel, 2000.
- [63] Swann, W. H.: Report on the development of a new direct search method of optimization. *I.C.I Central Instrument Lab*, Research Note 64/3, 1964.
- [64] Tinson, W.; Hillier, A. J.; Jago, G. R.: Metabolism of Streptococcus thermophilus. *The Australian Journal of Dairy Technology*, March 1982.
- [65] Walter, E.; Pronzato, L.: *Identification of Parametric Models from experimental Data*. Springer, Berlin, 1997.